

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ,
ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ
КАФЕДРА ЕКОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач випускової кафедри
_____ В.Ф. Фролов
« _____ » _____ 2019 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА
(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 101 «ЕКОЛОГІЯ»
ОПП «ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА»

Тема: «Вплив пестецидів на стан ґрунтового мікробіоценозу»

Виконавець: студента групи ЕК-201м Зусько Вадим Аркадійович
(студент, група, прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник: доктор біологічних наук професор Міхєєв Олександр Миколайович
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище, ім'я, по батькові)

Консультант розділу «Охорона праці»: _____
(підпис) Кажан К.І.
(П.І.Б.)

Нормоконтролер: _____
(підпис) Явнюк А. А.
(П.І.Б.)

КИЇВ 2019

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра екології

Напрямок (спеціальність, спеціалізація): спеціальність 101 «Екологія», ОПІ Екологія та охорона наколишнього середовища

(шифр, найменування)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Фролов В.Ф.

«___» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Зуська Вадима Аркадійовича

1. Тема роботи «Вплив пестицидів на стан ґрунтового мікробіоценозу» затверджена наказом ректора 2364/ст від 11.10.2019 р.
2. Термін виконання роботи: з 14.10.2019 по 3.02.2020 р.
3. Вихідні дані роботи: вітчизняні та іноземні літературні джерела, результати лабораторних досліджень щодо вивчення впливу пестицидів на ґрунтові мікроорганізми
4. Зміст пояснювальної записки: огляд літературних джерел щодо екологічних ризиків застосування пестицидів та екологічних проблем взаємодії пестицидів та ґрунтового мікробіоценозу, методологія проведення наукових досліджень, характеристика та екотоксикологічна оцінка гербіцидів, визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії гербіцидів, особливості формування мікробіоценозу ґрунту, забрудненого персистентними гербіцидами, аналіз і узагальнення результатів дослідження
5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: таблиці, рисунки.

6. Календарний план-графік

№ з/п	Завдання	Термін виконання	Підпис керівника
1.	Вибір та формулювання теми дипломної роботи.	9.10.2019- 11.10.2019 р.	
2.	Огляд літератури для дипломної роботи	10.10- 12.10.2019	
3.	Статистична обробка результатів та підготовка розрахункової частини диплому	21.10- 28.10.2019	
4.	Створення реферату для дипломної роботи	29.10- 05.11.2019	
5.	Формування плану дипломної роботи	07.11.- 28.11.2019	
6.	Огляд та перевірка дипломної роботи керівником	29.11- 30.11.2019	
8.	Оформлення дипломної роботи	02.12.- 15.12.2019	
9.	Фінальне корегування дипломної роботи	17.12.- 13.01.2020	
10.	Створення презентації до дипломної роботи.	14.01. – 23.01.2020	
11.	Захист дипломної роботи.	03.02.2020 р.	

7. Консультація з окремого(мих) розділу(ів):

Розділ	Консультант (посада, П.І.Б.)	Дата, підпис	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці	Доцент кафедри БЖД, Кажан К.І.		

8. Дата видачі завдання: «11» жовтня 2019 р.

Керівник дипломної роботи (проекту): _____
(підпис керівника)

Міхєєв О.М.
(П.І.Б.)

Завдання прийняв до виконання: _____
(підпис випускника)

Зусько В.А.
(П.І.Б.)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Вплив пестицидів на стан ґрунтового мікробіоценозу»: 85 с., 8 рис., 16 табл., 74 літературних джерела, додатки А,Б,В.

Мета роботи: дослідити вплив полютантів на прикладі персистентних пестицидів та гербіцидів на екологічний стан ґрунту.

Об'єкт дослідження – вплив персистентних пестицидів та гербіцидів на мікробіоценоз ґрунту

Предмет дослідження – гербіциди, персистентні пестициди, ґрунтові мікроорганізми.

Методи дослідження: інформаційно-бібліографічні, аналітичні (огляд літератури, узагальнення результатів), мікробіологічні, хроматографічні, статистичні, математичні.

Для досягнення поставленої мети потрібно було вирішити такі завдання:

- дослідити екологічні ризики застосування пестицидів;
- дослідити актуальні екологічні проблеми взаємодії пестицидів та ґрунтового мікробіоценозу;
- проаналізувати існуючі методи дослідження впливу полютантів на екологічний стан ґрунту та вибрати оптимальні для досліджень цієї роботи;
- дослідити вплив полютантів на прикладі гербіцидів на екологічний стан ґрунту.

Результати дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень та в практичній діяльності фахівців-екологів.

ЗАБРУДНЕННЯ, ҐРУНТ, КСЕНОБІОТКИ, ПЕРСИСТЕНТНІ ПЕСТИЦИДИ. ГЕРБІЦИДИ, МІКРООРГАНІЗМИ ҐРУНТУ

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ	10
1.1. Екологічні ризики застосування пестицидів	10
1.2. Актуальні екологічні проблеми взаємодії пестицидів та ґрунтового мікробіоценозу	14
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	23
2.1. Матеріали досліджень	27
2.2. Методи досліджень	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	30
3.1. Характеристика та екотоксикологічна оцінка гербіцидів	30
3.2. Особливості формування мікробіоценозу ґрунту, забрудненого персистентними гербіцидами ...	34
3.3. Оцінка впливу хлорорганічних пестицидів на мікробіоценоз ґрунту	40
3.4. Визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії гербіцидів	45
3.5. Виділення ґрунтових бактерій, стійких до високих концентрацій гербіцидів	49
3.6. Пошук і відбір штамів бактерій роду <i>Pseudomonas</i> , нечутливих до токсичної дії гербіцидів	55
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	57
ВИСНОВКИ	62
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ	63
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	72
ДОДАТКИ	80

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

БГКП – бактерії групи кишкових паличок;

ГДК – гранично допустима концентрація;

ГОСТ – міждержавний стандарт СНД;

ДСТУ – державний стандарт України;

ЗМЧ – загальне мікробне число;

ЗР – забруднююча речовина;

ЗУ – закон України;

ЄС – Європейський Союз;

ІАП – Інститут агроєкології та природокористування;

КУО – колонійутворювальна одиниця;

МПА – м'ясо-пептонний агар;

НААН – Національна академія аграрних наук України;

НПС – навколишнє природне середовище;

ХЗЗР – хімічні засоби захисту рослин;

ВСТУП

Актуальність теми. Щорічно у світі використовують 3 млн. т пестицидів, на суму 3 млрд. дол., при чому витрати кожен рік зростають на 15%. Асортимент пестицидів становить 12 тис. препаратів (700 хімічних сполук), серед яких найбільше гербіцидів (40% від загального виробництва пестицидів). В Україні щороку використовується 15 тис. тонн пестицидів на площі 15-18 млн. га [1,2,3].

Токсичні речовини та їх метаболіти, що надходять із засобами хімізації у ґрунт, циркулюють тривалий час у воді, атмосфері, ґрунті, потрапляють у трофічні ланцюги, а все це призводить до глобального забруднення біосфери.

Надмірне використання мінеральних добрив, пестицидів та інших хімічних препаратів разом з промисловим забрудненням ще більше ускладнює екологічну ситуацію в Україні, знижує відтворювальну здатність біосфери та екологічну стійкість агроландшафтів.

Пестициди або ХЗР - це продукти органічного синтезу, чужорідні для біосфери речовини, тобто ксенобіотики, які людина використовує свідомо. Незважаючи на всі економічні вигоди, які отримують при використанні пестицидів, останні мають низку несприятливих рис: більшість із них токсичні для людини, мають мутагенні та канцерогенні властивості.

У районах з інтенсивним застосуванням пестицидів відбувається зміна чисельності та видового складу ссавців, комах, птахів. Зараз відомо 800 видів комах, стійких до інсектицидів, бур'яни стають стійкими до гербіцидів [4]. Засоби захисту рослин є токсичними речовинами. Значення пестицидів як забруднювачів навколишнього середовища, визначається їх поведінкою на полях, що оброблюються і прилеглої території, де відбувається міграція в інші ланки агроєкосистем, викликаючи порушення харчових ланцюгів організмів.

Різні системи оцінювання екологічної небезпеки пестицидів базуються на санітарно-гігієнічних і токсикологічних показниках пестицидів: здатність зберігати свої властивості в ґрунті і воді, здатність мігрувати ґрунтовим профілем, накопичення в сільськогосподарській продукції, вплив на біоту. З точки зору

агротехнологій оцінка небезпеки впливу пестицидів на стан здоров'я людини і навколишнє середовище повинна враховувати також норму витрати препарату.

В той же час використання пестицидів обумовлено необхідністю збереження врожаю сільськогосподарських культур, тому їх вносять в агроценози, і таким чином пестициди безперервно циркулюють у НПС.

Циркуляція пестицидів обумовлена їх фізико-хімічними властивостями і умовами середовища, в яке вони потрапляють. Небезпеку несуть не тільки діючі речовини препаратів, але і продукти їх метаболізму.

Незалежно від способу застосування основна маса пестицидів потрапляє в ґрунт. Кількості, в яких пестициди знаходяться у навколишньому середовищі, на думку багатьох дослідників, значно перевищують здатність природи до самоочищення. За сучасними даними, лише 1-3% фунгіцидів та інсектицидів досягають мети, лише 5-40% гербіцидів знищують бур'яни, а не використані кількості залишаються в ґрунті. Ґрунт є проміжною ланкою в кругообігу пестицидів у біосфері. З ґрунту вони можуть потрапляти у води поверхневого та підґрунтового стоку, атмосферу, а через продукти рослинного й тваринного походження – в організм людини. Пестициди здатні циркулювати в навколишньому середовищі тривалий час – деякі до 40 років і більше. Найбільш небезпечна міграція стійких пестицидів.

Старі сховища агрохімікатів є постійним джерелом забруднення прилеглих ґрунтів. Це серйозна проблема для довкілля внаслідок полікомпонентності забруднення, високої токсичності компонентів та неналежних умов зберігання.

Ґрунт є одним із найбільших багатств держави, найскладнішим за можливістю очищення середовищем, невідновлювальним ресурсом, від його стану залежить не тільки продуктивність і якість виробленої продукції, але й збереження біорізноманіття. Ось чому проблеми біоремедіації ґрунту, розкладу, детоксикації пестицидів за допомогою мікроорганізмів є глобальними і актуальними для оздоровлення ґрунту і відновлення його родючості.

Провідну роль у деструкції пестицидів, як і інших ксенобіотиків, відіграють мікроорганізми. Тому біоремедіація ґрунту за допомогою природних

мікроорганізмів може бути одним із ефективних і екологічно безпечних методів оздоровлення ґрунту.

Таким чином, за сучасних соціально-економічних умов України актуальності набула проблема застосування пестицидів в агротехнологіях та дослідження наслідків їх впливу на екосистеми і стан здоров'я людей. Дослідження ступеня забруднення сільгоспугідь та продукції сільського господарства органічними полютантами та ксенобіотиками, визначення джерел забруднення, прогноз їх небезпеки, діяльність з метою попередження забруднення агроландшафтів є надзвичайно актуальними та важливими сучасними завданням екотоксикологічного моніторингу.

Мета і завдання виконання дипломної роботи: дослідити вплив полютантів на прикладі гербіцидів на екологічний стан ґрунту.

Завдання дипломної роботи:

1. дослідити вплив полютантів на прикладі персистентних пестицидів та гербіцидів на екологічний стан ґрунту.

2. Визначити екологічні ризики застосування пестицидів та екологічних проблем взаємодії пестицидів та ґрунтового мікробіоценозу

3. проведення наукових досліджень, характеристика та екотоксикологічна оцінка гербіцидів, визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії гербіцидів

Об'єкт дослідження. вплив гербіцидів на мікробіоценоз ґрунту

Предмет дослідження. гербіциди, персистентні пестициди, ґрунтові мікроорганізми.

Методи дослідження. інформаційно-бібліографічні, аналітичні (огляд літератури, узагальнення результатів), мікробіологічні, хроматографічні, статистичні та математичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Визначення дуалу проводили методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) та газорідинної хроматографії (ГРХ) . Екстракцію дуалу із проби проводили гексаном[68].

Практичне значення отриманих результатів. Використаний метод дифузії в агар для визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії пестицидів є швидким та інформативним для пошуку резистентних штамів.

Особистий внесок випускника. Полягає в зборі та обґрунтуванні наукової інформації, особисто брав участь у всій лабораторній роботі, написання вихідних результатів дослідження, створення висновків і аналіз роботи.

Апробація отриманих результатів. Результати проведених дослідів доповідалися на науковому засіданні в інституті агроєкології і природокористування для докторантів та молодих вчених.

Публікації.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ

1.1. Екологічні ризики застосування пестицидів

Законом України «Про охорону навколишнього природного середовища» (ст.20, 22) передбачено створення державної системи моніторингу довкілля та проведення спостережень за станом навколишнього природного середовища, рівнем його забруднення, зокрема, забруднення стійкими органічними забруднювачами та пестицидами [5].

Постійне зростання населення Землі потребує збільшення обсягів сільськогосподарської продукції. Аграрії дедалі частіше використовують інтенсивні технології, ефективність яких полягає не тільки в доборі інтенсивних сортів, гібридів, сучасної техніки, а й у високому рівні внесення мінеральних добрив та пестицидів.

Особливу небезпеку становить використання хімічних засобів захисту рослин без дотримання головних регламентів та застосування препаратів, заборонених у країнах Європейського Союзу. І, хоч у числі забруднювачів природи на пестициди припадає лише 20%, порушення нормативів їх використання призводить до непередбачуваних наслідків

Не менш важливою проблемою є забруднення довкілля застарілими, непридатними для використання та забороненими отрутохімікатами. Складські приміщення, в яких зберігаються непридатні пестициди (НП) та їхні суміші, за техніко-експлуатаційним станом вже давно не відповідають нормативам та виступають потужним джерелом надходження небезпечних ксенобіотиків у об'єкти навколишнього середовища.

Пестициди, що надійшли у ґрунт упродовж тривалого періоду експлуатації складів, продовжують мігрувати у суміжні середовища і тим самим створювати загрозу для живих організмів.

Висвітленню цієї проблеми присвячено праці вчених С.Д.Мельничука, Л.І.Моклячук, В.Й.Лоханської, І.М.Городиської, О.А.Слободенюк, В.А. Петришиної та ін. [6]

Дослідженнями науковців розроблено науково-методичні основи екотоксикологічного моніторингу пестицидів у межах системи агроекологічного моніторингу.

В сучасних умовах інтенсифікації застосування засобів захисту рослин та, враховуючи катастрофічну ситуацію забруднення пестицидами об'єктів агроecosистем під впливом локальних джерел забруднення (в т.ч. санітарних зон складів отрутохімікатів), актуальним є удосконалення існуючої системи агроекологічного моніторингу через введення до її складу оцінки можливих екологічних ризиків від пестицидного навантаження на об'єкти агроecosистем. Оцінка екологічних ризиків надасть можливість ще на етапі планування системи хімічного захисту рослин завчасно прогнозувати, оцінювати і пом'якшувати екологічні наслідки запланованої господарської діяльності.

У світовій практиці напрямок оцінки екологічних ризиків стрімко розвивається. Серед українських науковців слід відзначити праці таких авторів: М.Г. Проданчук, В.І. Великий, Ю.А. Кучак, О.П. Кравчук та ін. Їхні дослідження стосуються переважно аналізу, ситуаційного ризику асортименту пестицидів, оцінки екологічних ризиків забруднення навколишнього середовища [7,8].

Пестициди, які використовують у сільському господарстві, незалежно від способу застосування потрапляють головним чином в ґрунт. Ґрунт є тією першою ланкою, з якої пестициди надходять у трофічні ланцюги та тим своєрідним депо, де вони зазнають певних перетворень під впливом мікроорганізмів.

Особливість пестицидів на відміну від інших хімічних токсикантів полягає в тому, що їх циркуляції в біосфері запобігти неможливо, внаслідок свідомого внесення цих ксенобіотиків у навколишнє середовище в сільськогосподарському виробництві. Після застосування хімічні засоби захисту рослин (ХЗЗР) перебувають у довкіллі тривалий час до повного розкладу, впливаючи на всі

компоненти біогеоценозу: ґрунт, рослини, мікробіоту. Якість ґрунту визначає його родючість, що пов'язана з функціонуванням мікробного ценозу [9].

Оскільки ґрунт є динамічним живим утворенням, від якого залежить продуктивність рослин, якість довкілля, баланс і функції біосфери, то його якість визначається взаємодією основних компонентів: структури, хімічного складу, а також біоти.

Важливість біоти як невід'ємного компонента і сенсора усіх ґрунтових процесів – ґрунтоутворення, інтенсивності дихання, ферментативної активності тощо, доведена численними роботами науковців вітчизняних та зарубіжних шкіл.

Процес ґрунтоутворення і властивості ґрунту залежать від взаємодії абіотичних факторів з живими організмами. Ґрунтове середовище визначає видову різноманітність, чисельність, активність і продуктивність ґрунтової біоти. Екологічний і фітосанітарний стан ґрунтів визначається діяльністю ґрунтових мікроорганізмів – високочутливих індикаторів біологічної активності ґрунту.

В Україні в минулі роки за часів Радянського Союзу майже у кожному колективному господарстві знаходився склад, у якому в минулому зберігали велику кількість пестицидів. У цих складах та біля них, у межах санітарної зони, впродовж багатьох років перезатарювали, перевантажували та готували робочі розчини пестицидів.

Внаслідок тривалої та безконтрольної експлуатації складів зберігання пестицидів та агрохімікатів, а також літовищ, де базувалась сільськогосподарська авіація, ці зони забруднились персистентними пестицидами у кількостях, що значно перевищують їх ГДК в ґрунті [10,11].

Забруднений ґрунт, у свою чергу, може бути джерелом забруднення навколишніх територій та підземних вод стійкими токсичними органічними сполуками шляхом переносу повітряним і водним шляхом, міграції за профілем ґрунту та мігруючими тваринами. Приміщення, де зберігали пестициди, руйнуються, на території санітарних зон часто розташовані приватні земельні ділянки. Заборонені пестициди таким чином можуть потрапляти у продукти

харчування. Загальна площа забруднених ділянок в Україні складає понад 10 тис. га [12].

Виходячи з вищезазначеного, проблему утилізації небезпечних для довкілля ксенобіотиків, можна вважати важливою екологічною проблемою для нашої країни. Кабінет Міністрів України ще в 1992 році прийняв постанову «Про затвердження порядку одержання дозволу на використання, зберігання, транспортування, поховання, знешкодження та утилізацію отруйних речовин, включаючи токсичні промислові відходи, продукти біотехнології та інші біологічні агенти».

Згідно цієї постанови впровадження ефективних технологій утилізації непридатних пестицидів вважається стратегічним напрямом. Але знешкодження пестицидів дуже складне завдання. На сьогодні використовують такі основні способи утилізації токсичних відходів: термічні, хімічні та біологічні.

Із можливих методів знешкодження пестицидів найпоширеніший – термічний. На жаль, при спалюванні за температури 900-1000°C можуть утворюватися токсичні продукти. Повне згоряння стійких пестицидів відбувається у плазмових печах за температури 2500-3000°C, але цей метод високоенергоємкий. Утилізація 1 тони непридатних пестицидів термічним методом коштує понад 27 тис. грн.

Метод каталітичного окислення, розроблений у Вінницькому технічному університеті [13], дозволяє знизити витрати на 30-50%, але обидва ці методи непридатні для знезараження ґрунту.

Із інших методів в ІАП НААН запропоновано метод очистки ґрунтів від ДДТ та ГХЦГ за допомогою лужних агентів [14].

Останнім часом дослідження з біоремедіації ґрунтів, забруднених хімічними органічними ксенобіотиками активізувалися [15,16].

Із біологічних методів нині відомі методи компостування, фіторемедіації та мікробної біоремедіації. Метод компостування не отримав розповсюдження, як малоефективний. На початку 90-х років минулого сторіччя у США, Канаді почалася активна розробка методів фіторемедіаційних технологій [17,18]. Фіторемедіація оснований на здатності деяких рослин при вегетації вбирати в себе пестициди. Але потім постає питання про утилізацію рослинної біомаси, що містить токсичні

елементи. Крім того, вирощування рослин вимагає певних затрат часу і робочої сили.

Альтернативою термічним та хімічним методам знешкодження ґрунту від пестицидів можна вважати також використання здатності мікроорганізмів-деструкторів до розкладу цих ксенобіотиків. При мікробіологічній деструкції утилізації не потребується, деградація може відбуватися значно швидше.

Необхідність проведення досліджень щодо мікробного розкладання пестицидів не викликає сумніву, особливо з позиції очищення ґрунтів України від залишків пестицидів і запобігання накопичення таких залишків у ґрунті.

Проблема біоремедіації ґрунту, розкладу, детоксикації пестицидів за допомогою природних мікроорганізмів є глобальною та актуальною для оздоровлення ґрунту й відновлення його родючості. Важливим етапом в цьому комплексі робіт є пошук, відбір і дослідження мікроорганізмів, здатних до розкладу пестицидів.

Незважаючи на те, що проблема біодеградації пестицидів ґрунтовими мікроорганізмами актуальна для України, залишаються мало дослідженими питання пошуку ґрунтових мікроорганізмів, здатних до розкладу пестицидів та науково-методичне обґрунтування біодеградації пестицидів ґрунтовими мікроорганізмами.

Ще одним шляхом проникнення пестицидів в ґрунт є міграція персистентних пестицидів у місцях розташування старих складів та сховищ з непридатними пестицидами.

Забруднення ґрунту залишками персистентних препаратів (ДДТ, ГХЦГ, симтриазиновими гербіцидами та ін.) у місцях розташування старих складів з непридатними пестицидами є важливою екологічною проблемою для України та Східної Європи.

Внаслідок багаторічної експлуатації ґрунти навколо цих місць постійного зберігання небезпечних ксенобіотиків виявилися забрудненими пестицидами у концентраціях, що у десятки і сотні, нерідко у тисячі разів перевищують гігієнічні нормативи для ґрунту. У місцях розташування старих складів гербіцидів не

відмічено ніякої рослинності. Ґрунт біля старих сховищ стає непридатним для вирощування сільськогосподарської продукції.

На жаль, нині в Україні неможливо безпечно утилізувати відходи такого роду через відсутність достатньої кількості необхідних технологій знешкодження та через брак фінансування цього напрямку природоохоронної діяльності. Тому небезпечні ксенобіотики продовжують зберігатися та накопичуватися в приміщеннях діючих та недіючих складів агрохімікатів різних форм власності, яких в Україні сьогодні налічувалося близько 5 тис. [19,20].

На особливу увагу заслуговують персистентні, заборонені до використання хлорорганічні пестициди (ХОП), що масово використовувались у минулому в якості інсектицидів у сільському господарстві – ГХЦГ та ДДТ. Так, з 1950 по 1972 р. у світі було використано близько 4,5 млн. т ДДТ. Найважливіша риса ХОП – стійкість щодо факторів навколишнього середовища. Вони можуть зберігатися в ґрунті десятки років після використання, а також мігрувати трофічними ланцюгами. [21]

ГХЦГ та ДДТ знайдено навіть у ґрунті біосферних заповідників [22]. Крім того, ДДТ та ГХЦГ – носії та попередники диоксинів, які за рівнем небезпеки внесено до переліку А (ті, що потребують ліквідації) Стокгольмської конвенції 2001 року – ще більш небезпечних для людини речовин, що спричиняють в клітині ті самі зміни, що й іонізуюче випромінювання [22]. До цього часу в ґрунтах сільськогосподарських угідь знаходять залишки ХОП [23,24,25].

Враховуючи те, що в Україні на складах накопичено велику кількість непридатних до використання пестицидів, залишки яких є джерелом забруднення ґрунту та підґрунтових вод [26,27], проблема забруднення ґрунту біля складів потребує детального вивчення.

1.2. Актуальні екологічні проблеми взаємодії пестицидів та ґрунтового мікробіоценозу

Мікробний ценоз ґрунту складає велика кількість угруповань мікроорганізмів, які населяють ділянку середовища з більш-менш однорідними умовами та здійснюють трансформацію органічних та мінеральних речовин.

Таксономічну структуру мікробного ценозу всіх ґрунтів представлено такими основними групами мікроорганізмів: бактеріями, стрептоміцетами, мікроміцетами. У середньому в 1 г ґрунту знаходиться 3-90 млн. бактерій, 8-1000 тис. мікроміцетів, 3-90 млн. стрептоміцетів [28,29,30].

Широке розповсюдження мікроорганізмів у ґрунті пояснюється швидкістю їх розмноження та різноманітністю метаболізму. Здатність мікроорганізмів добре зберігатися при несприятливих умовах, швидко відновлюватися в сприятливих зумовлює стабільність ґрунту як біологічної системи [31].

При антропогенному впливі на природні екосистеми їх біологічні компоненти зазнають значних змін. Одними з перших біологічних об'єктів, що підпадають під дію антропогенних факторів у ґрунті, є мікроорганізми. На рухомість і функціонування мікробного ценозу ґрунту впливає його забруднення хімічними речовинами. Пестициди, які щорічно використовуються в сільському господарстві, можна вважати постійно діючим фактором антропогенного впливу на ґрунтовий мікробіоценоз.

Мікробіота характеризується поліфункціональністю і, беручи участь в протилежних реакціях, здійснює стабілізуючу функцію метаболічної рівноваги в природі. Завдяки значній поверхні контакту з середовищем вона проявляє сильну чутливість до мінливих умов існування, а висока швидкість розмноження дає можливість в короткий термін виявляти зміни, які виникають під впливом екологічних чинників [32, 33,34].

Питання дії пестицидів на ґрунтові мікроорганізми зацікавило вчених ще на початку 70-х років минулого століття, коли використання цих хімікатів досягло великих масштабів. Було з'ясовано, що вплив пестицидів на ґрунтовий

мікробіоценоз залежить від багатьох факторів: типу ґрунту, механізму дії діючої хімічної речовини препарату, дози пестициду, його персистентності, швидкості розпаду, температури, вологості, сорбційної здатності ґрунту, особливості агротехніки вирощування культур [35].

Важливим є питання впливу пестицидів на основні мікробіологічні процеси, що відбуваються у ґрунті . Оцінка даних літератури щодо впливу пестицидів на азотфіксацію дає змогу констатувати негативний вплив на цей процес. Найчастіше пестициди впливають на симбіотичну бобово-ризобіальну асоціацію.

Встановлено, що триазини індукують нітратредуктазну активність, що призводить до зниження рівня фіксації атмосферного азоту, в результаті чого рослина переходить на використання мінеральних сполук азоту . Арилоксикарбонати марганцю пригнічують нітрогеназну активність ґрунту.

Деякі пестициди блокують процеси нітрифікації, що призводить до нагромадження у ґрунті амонію. У результаті знижуються втрати азоту і скорочується виділення з ґрунту його летких окислів. Атразин і симазин пригнічують целюлозолітичну активність ґрунту [36,37].

У працях, присвячених впливу пестицидів на різні угруповання мікроорганізмів, зустрічаються дані, які мають суперечливий характер. Це пояснюється тим, що у ґрунт потрапляють сотні груп пестицидів, спричиняючи велику різноманітність відповідних реакцій мікробіоти.

На цей процес впливають також і зміни погодних та кліматичних умов. На думку багатьох науковців мікрофлора ґрунту здатна витримувати рекомендовані для застосування дози пестицидів. Здебільшого при застосуванні цих препаратів можливе тимчасове її пригнічення з наступним відновленням чисельності [38,39].

Потрапляючи в ґрунт, пестициди можуть прямо чи опосередковано впливати на ґрунтові мікроорганізми. Пряма дія виявляється у пригніченні діяльності деяких груп мікроорганізмів. Ю.В.Круглов розглядає чутливі до тих або інших пестицидів мікроорганізми як індикаторні групи або „екологічні мішені”. Стійкі зміни у видовій структурі індикаторної групи під впливом пестицидів свідчать про перевантаження ґрунту біоцидами [40].

Важливим аспектом оцінки негативної дії пестицидів на довкілля є вивчення впливу їх на мікроорганізми ґрунту – одного із найважливіших компонентів біоценозу. Аналіз сучасних даних літератури свідчить про те, що пестициди спричиняють різноманітний вплив на ґрунтові мікроорганізми. Оскільки основним фактором, що забезпечує високу родючість ґрунту і його самоочисну здатність, є мікроорганізми, збереження родючості залежить від взаємодії пестицидів і мікроорганізмів. Важливо, щоб застосування пестицидів не призводило до зниження родючості ґрунту, окрім того, ґрунт – найпотужніший природний фільтр, що забезпечує чистоту біосфери в цілому.

Негативний вплив виробничих навантажень пестицидів на ґрунтові мікроорганізми носить зворотний характер. Хоча мікробіота має здатність відновлюватись, систематичне застосування отрутохімікатів може надовго виключити життєдіяльність чутливих щодо певних хімічних сполук мікроорганізмів.

Найбільш негативним наслідком впливу пестицидів на ґрунтові мікроорганізми є збіднення видового різноманіття останніх. Збереження видового складу мікрофлори ґрунту під впливом антропогенних факторів, одним з яких є пестициди, є частиною глобальної екологічної проблеми збереження біорізноманіття, яка була відображена у Декларації з навколишнього середовища та розвитку до Порядку денного на XXI сторіччя (Ріо-де-Жанейро, 1992) [41].

Мікроорганізми, які здатні до життєдіяльності у ґрунті, забрудненому залишками пестицидів, можна розглядати як стійкі до концентрацій, які в десятки ті сотні разів перевищують ГДК. Вони можуть виконувати важливу роль в процесах самоочищення ґрунту від хімічних забруднювачів. Тому пошук стійких до пестицидів мікроорганізмів є важливим етапом у здійсненні мікробної біоремедіації забруднених пестицидами ґрунтів.

Розпад пестицидів у ґрунті може відбуватися різними шляхами під впливом фізичних, хімічних, біологічних факторів . Але розклад пестицидів за допомогою мікроорганізмів вважається найвагомішим шляхом їх знешкодження в ґрунті . За

даними деяких авторів процес мікробної деградації хімічних речовин, які потрапляють у ґрунт, становить від 70 до 90% всіх процесів їх розпаду [42].

Вивчаючи питання біорозкладу пестицидів у ґрунті слід виходити з вчення про біосферу В.І.Вернадського, який визначав ґрунт як “біокосне природне тіло біосфери”. Згідно з цим уявленням ґрунт – закономірна структура, що складається з “косних” і живих тіл; усі функції і фізико-хімічні властивості “біокосних” тіл не можуть бути обґрунтовані, якщо не врахована діяльність “живої речовини”, що знаходиться в них [43].

Основними біологічними агентами, що здійснюють біорозклад пестицидів, є мікроорганізми, які мають велике різноманіття ферментних систем та лабільність метаболізму .

Біодеградація (біорозклад) – це процес перетворення складних речовин за допомогою ферментативної активності . Широке поняття біодеградації включає: 1) трансформацію, або незначні зміни молекули; 2) фрагментацію, або розклад складної молекули на більш прості; 3) мінералізацію, або перетворення складної речовини в простіші (H_2O , CO_2 , H_2 , NH_3 , CH_4) [44].

Простим доказом можливості розкладу пестицидів в ґрунті під впливом мікроорганізмів є більш висока швидкість деградації цих хімічних речовин в нестерильному ґрунті в порівнянні зі стерильним, що показано в роботі М.Александера та ін. [45,46].

Бактерій *Pseudomonas* роду здатні до деградації фенолів, п-нітроаніліну, бензолу, толуолу, продуктів деструкції фосфорорганічних токсичних речовин, поверхнево-активних речовин (ПАР), нафталіну, метану, етану, пропану, н-бутану, використовують Σ -капролакта́м, додецилсульфат як джерело азоту та вуглецю.

Встановлена здатність бактерій *Pseudomonas* до утилізації α - та β -ізомерів ГХЦГ в ґрунті. Штам *P.aeruginosa* 640x є деструктором ДДТ в умовах кометаболізму. При внесенні в ґрунт штаму *P.aeruginosa* BS827 спостерігається розклад акарициду кельтану, *P.putida* MK55 розкладає ДМФ в ґрунті . Представники роду *Pseudomonas* можуть утилізувати іпрадин і делапон . Проведені дослідження підтверджують спроможність бактерій цього роду в лабораторних умовах

розкладати хлоровані аліфатичні кислоти, похідні сечовини, галоїдзамісні похідні пропіонової та оцтової кислот, дихлорацетат. При внесенні *P.putida*, *P.fluorescens* прискорювалась деструкція фозалона.

В той же час мікробна деградація пестицидів в ґрунті потребує комплексу певних умов. Тому перетворення пестицидів у природі відбувається дуже повільно через відсутність оптимальних умов для біодеградації, яка залежить від багатьох факторів. Так, залишкові кількості ХОП можуть зберігатися у ґрунті місяці, роки, десятки років.

Перш за все, тип і склад ґрунту визначають сорбцію хімічних речовин. Сорбовані пестициди стають захищеними від мікробної атаки. Дослідження С.А.Омельчук свідчать, що симазин і атразин розкладаються в торф'яно-болотному ґрунті інтенсивніше, ніж в дерново-підзолистому. В дерново-підзолистому ґрунті швидкість детоксикації залежить від механічного складу ґрунту: в супіщаних ґрунтах вона відбувається швидше, ніж у суглинках [47].

Розклад пестицидів залежить і від вологості ґрунту. З її підвищенням процес трансформації прискорюється. Інтенсивність мікробіологічних процесів в ґрунті залежить і від температури. Оптимальною є температура 20-30°C. При підвищенні або пониженні температури швидкість біодеградації уповільнюється.

Значно впливає на мікробіологічну деструкцію ХЗЗР рН середовища, в якому вона відбувається. Вважається, що пестициди адсорбуються значно менше та розкладаються швидше в лужних ґрунтах, ніж в кислих та нейтральних [48].

Дані Г.О.Іутинської, С.П.Пономаренко свідчать, що в лабораторних умовах культивування в присутності біостимуляторів, а також при сумісному їх застосуванні з фунгіцидами в природних мікробних асоціаціях, підвищується чисельність мікроорганізмів, стійких до пестицидів і здатних до їх деструкції.

Велику увагу при вивченні розкладу пестицидів ряд дослідників приділяють явищу кометаболізма або співокислення. Кометаболізм – це ферментативні реакції трансформації органічних сполук, пов'язані з використанням додаткових ростових субстратів. Як ростові субстрати при кометаболізмі пестицидів можуть бути використані вуглеводи, спирти, органічні кислоти. Внесення цитрату прискорює

розпад атразину. В присутності n-гексадекана *P.aeruginosa* перетворює ДДТ в фенилацетат.

Г.К.Скрябін, Л.А.Головльова висловлюють припущення, що всі ензими, необхідні для деструкції ксенобіотиків, навряд чи синтезуються одним видом мікроорганізмів, а для ефективного розкладання цих сполук необхідні складні мікробні консорціуми.

Руйнування пестициду швидше відбувається в декілька етапів сумішню культур у процесі коменсалізму. Автори пояснюють це тим, що різні групи мікроорганізмів беруть участь в деструкції на різних стадіях, в результаті чого мікроорганізми одного виду починають процес, а після цього трансформовану молекулу пестициду атакують мікроорганізми іншого виду.

Природа токсичності гербіцидів різноманітна: це може бути канцерогенний або мутагенний ефект; дія на дихальну, ендокринну, імунну, нервову та інші не менш важливі системи. Ступінь токсичності гербіцидів визначається мірою легкості їхнього проникнення, здатністю до накопичення в організмі, ступенем і швидкістю знешкодження і видалення з організму.

З метою запобігання шкідливого впливу гербіцидів, досягнення вимог високої біологічної ефективності щодо цільового використання, безпеки для здоров'я людини та навколишнього природного середовища за умови дотримання регламентів їх застосування й відповідності державним стандартам, санітарним нормам, іншим нормативним документам проводиться їх державна реєстрація, що регулюється Законом України «Про пестициди і агрохімікати» [49].

У 2016 р. в Україні вартість ХЗЗР становила \$ 897 млн (за трьома основними зерновими і трьома олійними культурами). Структура ринку залежності від виду захисту рослин в Україні мала такий вигляд: основну частку ринку посіли гербіциди – 51%, частка фунгіцидів сягала майже 23, обробка насіння – всього 11, частка інсектицидів – 3 і 12% становлять інші види захисту від загальної ринкової вартості [50].

У 2017 р. структура ринку змінилася і виглядала так: 45% належали регуляторам росту рослин, 20 – гербіцидам, 15 – фунгіцидам, 12 – інсектицидам і 12% – інші види захисту рослин (рис. 1.1).

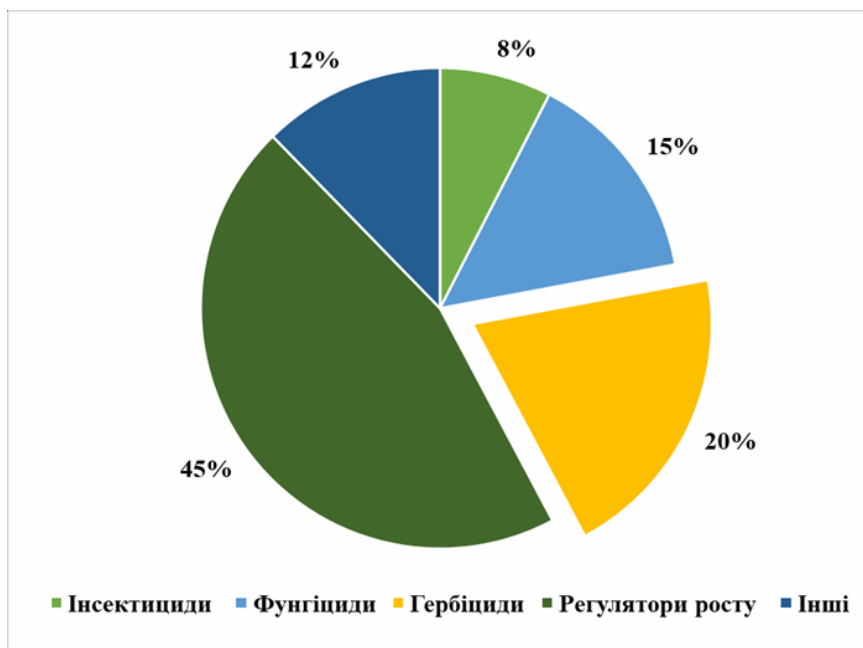


Рис. 1.1 – Структура ринку засобів захисту рослин України 2017 р.(за даними Мазур С.О.)

Основна проблема використання гербіцидів полягає в тому, що вони поступово втрачають свою ефективність. За даними аналізу лише 5–40% гербіцидів знищують бур'яни. Залишки яких потрапляють у ґрунт, водойми, атмосферу. Це відбувається за рахунок того, що популяції шкідників мінливі: вони являють собою динамічний генофонд, який має здатність швидко еволюціонувати.

Обробка полів пестицидами призводить до загибелі найбільш чутливих особин, тоді як стійкіші продовжують розмножуватися, даючи нове, більш витривале покоління. За роки використання хімічних речовин постійно збільшувалась кількість стійких до них видів [51-53].

Друга проблема, пов'язана з використанням синтетичних пестицидів, виражається в тому, що після хімічної обробки шкідників вони не тільки

повертаються, але можуть з'явитися в значно більшій кількості. Це іноді називається їх відродженням.

Пестициди збільшують стійкість шкідників, призводять до вторинних спалахів чисельності, що потребує використання нових препаратів, а це, своєю чергою, спричиняє подальше збільшення стійкості, нові вторинні спалахи та ін. Процес являє собою замкнуте коло, яке постійно збільшує небезпеку для здоров'я людини та навколишнього середовища [54].

Сумарні рівні інтенсивних витрат пестицидів, спроможних негативно впливати на стан здоров'я населення, дотепер не регламентовані. Це значно ускладнює санітарний контроль за ними, починаючи з етапу їх застосування. Розв'язати проблему сумарних навантажень пестицидів традиційними методами неможливо, оскільки існуючі гігієнічні нормативи розраховані на контроль залишків тільки окремих препаратів, а в організм потрапляють залишки далеко не одного препарату, що може зробити їхнє сумарне навантаження, небезпечним для здоров'я людини. Особливо небезпечні хлорорганічні пестициди, через їх високу стійкість та різноманітні ефекти впливу (токсичний, мутагенний, канцерогенний) [55].

Потенційна небезпека використання пестицидів зумовлена їхньою токсичністю для людини і фауни, а в деяких випадках і для рослин, здатністю викликати побічні ефекти та віддалені наслідки.

Пестициди забруднюють ґрунт не властивими йому сполуками, пригнічують його біологічну активність, спричиняють небезпеку порушення складу популяцій біоценозів і пригнічення корисної фауни ґрунту, виникнення популяції шкідників, стійких до пестицидів; сприяють небезпеці масової появи мутацій, що порушують генетичну чистоту високопродуктивних сортів, погіршують якість сільськогосподарської продукції, утворюють небезпеку інтоксикації тварин і людини [56, 57, 58,59].

1.3.Висновки до розділу 1.

Актуальною екологічною проблемою сьогодення є глобальне хімічне забруднення навколишнього середовища. Це викликає обґрунтоване занепокоєння про можливе порушення екологічної рівноваги в окремих екосистемах та зокрема в системі «мікроорганізм – рослина».

Особливу небезпеку становлять синтетичні сполуки, які надходять у природне середовище в результаті господарської діяльності людини. Важливе місце серед них посідають пестициди – хімічні засоби захисту рослин від захворювань, шкідників і

Застосування засобів захисту рослин, зокрема гербіцидів є невід’ємною частиною сучасних агротехнологій, які забезпечують зниження конкуренції за поживні елементи між культурою та бур’янами, особливо на ранніх етапах розвитку культури, та збереження до 65% врожаю.

Поряд із цим, нераціональне та неконтрольоване використання останніх може призвести до невизначених екологічних наслідків в агроєкосистемі, внаслідок чого відбувається деградація екосистем, забруднення навколишнього природного середовища, виснаження природних ресурсів, зменшення і втрата біорізноманіття.

Наведені вище матеріали аналітичного огляду літератури стали передумовою для виконання даної роботи, постановки її мети та завдань, вибору об’єктів дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали досліджень

Матеріалом досліджень слугували зразки ґрунту, характеристики яких наведено в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Основні характеристики досліджуваних ґрунтів

Тип ґрунту	Грануло- метричний склад	РН сольове	Гумус (%)	Якісний склад гумусу
Сірий лісовий	Грубопилуватий, середньосу- глинковий	5,2-5,4	2	Сг.к.:Сф.к.= 0,6
Чорнозем вилугуваний	Грубопилуватий, легко-суглинковий	5,9	3,6	Сг.к.:Сф.к.= 0,6
Чорнозем опідзолений	Грубопилуватий, легко-суглинковий	4,7	3,7	Сг.к.:Сф.к.= 0,6

Примітка: г. к.- гумінові кислоти, ф. к. – фульвокислоти.

Для проведення досліджень використовували гербіциди (табл. 2.2), які зареєстровано і внесено до «Переліку дозволених для використання в Україні» [1].

Дуал використовують для обробки посівів кукурудзи, цукрових буряків, соняшнику, сої, гороху, ріпаку. Рекомендована норма використання 1,2-3,2 л/га.

Гезагард використовують для досходової обробки посівів соняшнику, гороху, моркви, коріандру, картоплі. Рекомендована норма використання 2,0–4,0 л/га.

Таблиця 2.2

Перелік досліджуваних пестицидів

Назва пестициду	Призначення	Норма застосування
Дуал	Гербіцид	1-1,6 л/ га
Примекстра	Гербіцид	2,5-3,5 л/ га
Гезагард	Гербіцид	2,0-4,0 л/ га
ГХЦГ	Інсектицид	Заборонено до використання
ДДТ (ДДД, ДДЕ)	Інсектицид	Заборонено до використання

Примекстру використовують для обробки посівів кукурудзи при нормі 2,5-3,5 л/га. Використовують проти однорічних злакових та дводольних бур'янів. Спосіб обробки: обприскування ґрунту - до висівання або до появи сходів культур (у зонах недостатнього зволоження - із загортанням) або у фазі 2-3 справжніх листків у рослини.

Вищеназвані препарати вироблені фірмою Сингента (Швейцарія). Кожний гербіцид складається із діючої речовини, яка безпосередньо має біоцидну дію, та наповнювачів. В табл. 2.3 наведено діючі речовини і їх вміст в досліджуваних гербіцидах .

Таблиця 2.3

Діючі речовини досліджуваних препаратів

Назва препарату	Діюча речовина	Вміст діючої речовини
Гезагард	Прометрин	500 г/л
Примекстра	Метолахлор	400 г/л
	Атразин	320 г/л

Інсектициди ДДТ, ГХЦГ ще в 80-і роки минулого століття заборонено для використання, але за період їх масового використання в ґрунтах України накопичено залишки цих стійких ХОП та їх метаболітів, які містяться в ґрунтах і досі.

Діючі речовини досліджуваних препаратів відносяться до наступних класів: сим-триазинові сполуки - атразин, прометрин; галоїдзамісні аніліди карбонових кислот – метолахлор; хлорорганічні сполуки – ГХЦГ, ДДТ і його метаболіти - ДДЕ, ДДД. [60].

Для характеристики основних фізичних властивостей діючих речовин препаратів використано відомості, які наведено в довіднику [61].

Прометрин - біла кристалічна речовина без запаху, температура плавлення 118-120°C. Молекулярна маса - 241,4. Розчинність у воді - 48 мг/л при 20°C. Добре розчиняється в ацетоні, дихлорметані, гексані (5,5 г/л), метанолі, толуолі.

Атразин - білий порошок без запаху і кольору, температура плавлення 173-175°C. Молекулярна маса 215,7. Розчинність у воді 70 мг/л при 20°C і слабо - в органічних розчинниках, мало леткий. В сухому вигляді у водній суспензії з нейтральною, слабокислою або лужною реакцією при кімнатній температурі стабільний. Слабо гідролізується при 70°C в нейтральному середовищі, швидше - в кислому та лужному .

Метолахлор – рідина без кольору, температура кипіння 100°C. Молекулярна маса – 283,8. Розчинність у воді при 20°C 530 мг/л. Добре розчиняється в більшості органічних речовин, за виключенням аліфатичних вуглеводнів.

ДДТ - біла кристалічна речовина, температура плавлення 109°C. Молекулярна маса - 354,5. Розчинність у воді - 0,001 мг/л. Добре розчиняється в ароматичних вуглеводнях, кетонах, карбонових кислотах. Мало леткий.

ГХЦГ - білий кристалічний порошок, температура плавлення 112,8°C. Молекулярна маса - 290,5. Розчинність у воді - 10 мг/л. Леткий. Не руйнується сильними кислотами. Стійкий до дії світла та води, вибухонебезпечний.

Дослідженню підлягали виділені ґрунтові мікроорганізми наступних родів: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Azotobacter*, *Xanthomonas*.

Bacillus polymyxa – колонії незабарвлені, плоскі, гладкі, в'язкі. Клітини крупні грампозитивні рухомі палички (3-5)х(1,1-1,1) мкм. Спори круглі, овальні. Гідролізують желатину. Асимілюють крохмаль, мальтозу, маннозу, лактозу, глюкозу, сахарозу, галактозу, арабінозу, манніт, рафінозу. Дульцит не засвоюють. При цьому утворюють кислоти – молочну, оцтову, а також етиловий спирт, бутілен-гліколь. Фіксують атмосферний азот, підкислюють середовище до pH 4,2.

Agrobacterium radiobacter – колонії безбарвні, гладенькі. Клітини-палички розміром 0,8х(1,5–3,0) мкм, рухомі, неспороутворюючі, розташування джгутиків латеральне. Грамнегативні. Аероб, оптимальна температура 23-32°C, pH 5,8-9,0. Добре використовує глюкозу, сахарозу, Фруктозу, лактозу, галактозу, мальтозу, маніт, сорбіт, дульцит. Слабо – крохмаль. Целюлозу та агар не розкладає. Зброджує прості вуглеводні з утворенням кислоти та CO₂. Використовує мінеральні органічні форми азоту, проте здатний фіксувати азот з атмосфери. Казеїн не гідролізує, желатину не розріджує.

Xanthomonas campestris 8158 – колонії круглі блискучі колонії, спочатку світлі, потім жовті, край рівний, у центрі структура у вигляді лійки. Грамнегативні, рухливі, не спороносні палички розміром (0,4-0,7)х(0,4-1,8) мкм, добре ростуть на звичайних поживних середовищах – м'ясо-пептонному агарі (МПА), картопляному агарі (КА). Оптимальний ріст при 28°C.

2.2. Методи досліджень

Робота виконувалась у відділі екотоксикології ІАП НААН. Відбір проб та підготовку ґрунту до мікробіологічного аналізу проводили загальноприйнятими методами [62,63].

Вологомісткість ґрунту розраховували згідно ДОСТУ ISO 11269 [64].

При проведенні мікробіологічного аналізу ґрунту використовували метод граничних розведень. Готували різні розведення ґрунтової суспензії в фізіологічному розчині, які засівали в чашки Петрі з відповідним елективним середовищем.

Чисельність ґрунтових мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп визначали висівом на елективні середовища: при визначенні загальної чисельності аеробних мікроорганізмів – посівом на МПА, спорових - на МПА з глюкозою, олігонітрофілів – на середовище Ешбі, педотрофів - на ґрунтовий агар, оліготрофів – на голодний агар, мікроміцетів – на середовище Чапека, нітрифікуючих мікроорганізмів - середовище Виноградського, амоніфікаторів - МПБ, бактерій групи кишкової палички – на середовищі Ендо [65].

Культивування проводили в термостаті при оптимальній температурі 28°C, після чого проводили підрахунок колоній, які вирости. Розраховували кількість колонійутворюючих одиниць (КУО) в 1г абсолютно сухого ґрунту.

Чутливість мікроорганізмів до дії гербіцидів визначали за допомогою методу дифузії в агар з використанням дисків з фільтрувального паперу, просякнутими досліджуваними пестицидами [66,67].

Визначення залишкових кількостей пестицидів ДДТ (ДДД, ДДЕ), ГХЦГ, дуалу проводились відповідно з офіційно діючими методичними вказівками.

Визначення ХОП ґрунтується на вилученні ХОП із проби органічним розчинником, очистці екстрактів перерозподілом у системі двох розчинників і подальшому кількісному визначенні методами ГРХ. Ідентифікацію та кількісний аналіз пестицидів проводили з використанням хроматографу „Кристал-2000” .

Визначення дуалу проводили методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) та газорідинної хроматографії (ГРХ) . Екстракцію дуалу із проби проводили гексаном[68].

Обробка результатів аналізу. Вміст пестициду (X, мг/кг) розраховували за формулою:

$$X = \frac{100A H_2 V_2}{H_1 V_1 P K} \quad (1)$$

де:

A - вміст пестициду в стандартному розчині, який ввели в хроматограф, нг; H_1 - висота піку стандартного розчину пестициду, який ввели в хроматограф, мм; H_2 - висота піку пестициду на хроматограмі екстракту, мм; V_1 - об'єм екстракту, який ввели в хроматограф, мкл; V_2 - загальний об'єм екстракту після випаровування, мл; P - наважка проби, яка аналізується, мг;

K - процент визначення кожного пестициду в ґрунті (ДДТ-85%, ГХЦГ - 70 %).

Ідентифікацію та кількісний аналіз дуалу в рідкому середовищі проводили методом ТШХ [11, 12, 36]. Використовували хроматографічні пластини “Сорбфіл – УФ 254”.

Пластину поміщали в герметичну хроматографічну камеру у суміші розчинників гексан-ацетон у співвідношенні 3:2. Після розгонки пластину висушували та сприскували проявляючим реактивом. Опромінення проводили ультрафіолетовим світлом впродовж 10-15 хвилин, дуал проявляється у вигляді темно-сірих плям. Величина R_f дуалу - $0,50 \pm 0,03$.

Обробка результатів аналізу ТШХ. Кількісну оцінку гербіцидів проводили шляхом порівняння інтенсивності забарвлення та площ плям проби із стандартними розчинами. Вміст дуалу (X, мг/л) в рідкому середовищі розраховували за формулою:

$$X = \frac{AS_2}{PS_1} \quad (2)$$

де:

A - маса препарату, який нанесли на пластину із стандартного розчину, мкг; S₁ - площа плями стандартного розчину, мм; S₂ - площа плями проби, мм; P - маса чи об'єм проби, яку взяли для аналізу.

Екстракцію дуалу із ґрунту проводили гексаном. Для вивчення мікробної деструкції дуалу залишкову кількість цього гербіциду в ґрунті визначали за допомогою методу ГРХ. Ідентифікацію та кількісний аналіз гербіциду проводили з використанням хроматографу „Кристал-2000”.

В роботі використовували такі статистичні величини: середнє арифметичне, середнє квадратичне відхилення, коефіцієнт кореляції, ймовірна помилка середнього.

Статистичні обрахунки даних проводили з використанням комп'ютерних програм для Microsoft Excel Statistica v.6.0.

РОЗДІЛ 3.

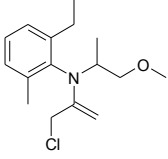
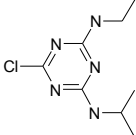
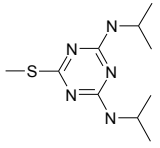
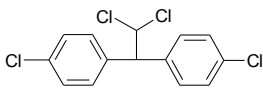
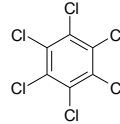
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Характеристика та екологічна оцінка гербіцидів

Сучасні гербіциди є органічними сполуками різних хімічних класів. В таблиці 3.1 представлено діючі речовини досліджуваних. емпіричні та структурні формули досліджуваних ХЗЗР.

Таблиця 3.1

Характеристика діючих речовин пестицидів

Діюча речовина	Емпірична Формула	Хімічна назва	Структурна формула
Метолахлор	$C_{12}H_{21}O_2NCl$	2-метіл-N-метоксіізо-пропіл-6-етілхлорацетанілін	
Атразин	$C_8H_{14}ClN_5$	2-хлор-4-етиламіно-6-ізопропіламіно-сим-триазин	
Прометрин	$C_{10}H_{19}N_5S$	2-метілмеркапто-4,6-диізопропіламіно-сим-триазин	
ДДТ	$C_{14}H_9Cl_5$	1-ди (4-хлорфеніл)-2,2,2- трихлоретан	
ГХЦГ	C_6Cl_6	1,2,3,4,5,6-гексахлор циклогексан	

Різні системи оцінювання екологічної небезпеки пестицидів базуються на санітарно-гігієнічних і токсикологічних показниках пестицидів: здатність зберігати свої властивості в ґрунті і воді, здатність мігрувати ґрунтовим профілем, накопичення в сільськогосподарській продукції, вплив на біоту. З точки зору агротехнологій оцінка небезпеки впливу пестицидів на стан здоров'я людини і навколишнє середовище повинна враховувати також норму витрати препарату. За характеристиками діючих речовин проаналізовано та обґрунтовано токсиколого-гігієнічну та екотоксикологічну оцінку гербіцидів, результати наведено у табл. 3.2

Таблиця 3.2

**Інтегральна оцінка ступеню небезпечності ґрунтових
гербіцидів**

Варіант	Діюча речовина	Клас токсичності		T ₅₀ ±0,5, Діб	C _{неб.}
		K _A	K _B		
Харнес	Ацетохлор	3	2,73	8,9	4,73
Дуал Голд	S-метолахлор	3	1,93	8,7	3,93
Гезагард	Прометрин	3	1,63	7,7	3,63

Отже, токсиколого-гігієнічна оцінка (K_A) досліджуваних ґрунтових гербіцидів дала змогу віднести їх до 3 класу небезпеки за показником токсичності.

Екотоксикологічна оцінка (K_B), в основі якої покладена константа швидкості детоксикації, виявилася більш чутливою до досліджуваних хімічних сполук. Доведено, що препарат Харнес мав майже у 1,4 рази більшу константу детоксикації порівняно препаратом Дуал Голд.

Токсичність пестицидів встановлювали за величиною ЛД₅₀ для пацюків перорально (за даними довідників), а стійкість – за T₅₀ в ґрунті.

Ступінь небезпеки характеризує пестицидні сполуки таким чином: дуже небезпечні – 1–2 ступінь (LD_{50} для щурів менше 20 мг/кг, період напіврозпаду в рослинах та ґрунті більше 20 діб), небезпечні – 3–4 ступінь (LD_{50} для щурів 20–200 мг/кг, $T_{50}=20-5$ діб), помірно небезпечні – 4–5 ступінь (LD_{50} для щурів 200–2000 мг/кг, $T_{50}=5-3$ діб) та малонебезпечні – 6–7 ступінь (LD_{50} для щурів більше 2000 мг/кг, T_{50} менше 3 діб).

Одержані дані, щодо коефіцієнту детоксикації дали можливість розрахувати інтегральну оцінку ступеню небезпеки гербіцидів ($C_{неб}$).

Отже, середньозважений ступінь небезпечності препарату Харнес, що містить полярний малонебезпечний ацетохлор 6 ступеня небезпечності, та Дуал Голд, що містить малополярну діючу речовину 4–5 ступеня, слід віднести до небезпечного 2 класу.

Гезагард, що містить малополярну діючу речовину прометрин 4 -5 ступеня – до помірно небезпечного 3 класу.

Небезпечність застосування ґрунтових гербіцидів визначали, враховуючи вміст діючої речовини та норму витрати за середньозваженим ступенем (Q) за формулою:

$$Q = \frac{(C_{1x} \cdot m_1 / H_1) + (C_{2x} \cdot m_2 / H_2) + (C_{nx} \cdot m_n / H_n)}{\Pi}, (3.1)$$

де C_n – інтегральна ступінь небезпеки пестициду, m – вміст діючої речовини, кг/га; H – норма витрати, кг/га; Π – кількість діючих речовин в комбінованому препараті (табл.3.3).

Відомо, що середньозважений ступінь небезпечності гербіцидів характеризує препарати за пріоритетним впливом на агроценози. Тому за цим показником препарат Харнес, що містить полярний малонебезпечний ацетохлор 6 ступеня небезпечності, та Дуал Голд, що містить малополярну діючу речовину 4–5 ступеня, слід віднести до небезпечного 2 класу.

**Інтегральна оцінка небезпечності застосування ґрунтових
гербіцидів за середньозваженим ступенем (Q)**

Варіант	C_н	М, кг/га	Н, дм³/г а	П	Q
Харнес	4,73	0,9	2,0	1	2,1285
Дуал Голд	3,93	0,9	1,5	1	2,358
Гезагард	3,63	0,5	2,0	1	0,9075

Гезагард містить малополярну діючу речовину прометрин 4–5 ступеня – до помірно небезпечного 3 класу.

Толерантність території до пестицидного навантаження оцінюється величиною індексу спроможності самоочищення земельного угіддя (I_{co}). Вона відображує інтенсивність деструкції пестицидів залежно від ґрунтово-кліматичних умов і виражається в балах: 0,1 – для ландшафтів сухого степу і солончаків; до 1,0 – для ландшафтів окультурених чорноземних ґрунтів у зоні достатнього зволоження.

З урахуванням усіх критеріїв на території України виділено п'ять зон детоксикації, які відрізняються за здатністю ландшафту до самоочищення і яким відповідають такі індекси: дуже інтенсивна > 0,80, інтенсивна = 0,80–0,61, помірна – 0,60–0,41, слабка – 0,40–0,20, та дуже слабка < 0,20.

Відомо, що для лісостепової зони України для чорноземів типових з ГТК=1,6–1,3 Індекс спроможності до самоочищення земельних угідь складає 0,55–0,7. Тобто самоочищення ландшафтів забезпечується, головним чином, за рахунок активної біохімічної деструкції препаратів у результаті високої ферментативної активності ґрунту і оптимальних умов для діяльності мікроорганізмів [69].

3.2. Особливості формування мікробіоценозу ґрунту, забрудненого персистентними гербіцидами

Одним із завдань нашої роботи було вивчення впливу високих концентрацій залишків персистентних гербіцидів на чисельність ґрунтових мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп.

Зразки ґрунту для досліджень відбирали з ділянки засіяного соняшником поля, на якому 10 років тому знаходилось тимчасове сховище пестицидів. На цьому полі було виявлено ділянку розміром 20x10 м, на якій впродовж останнього десятиріччя не ростуть ні сільськогосподарські рослини, ні бур'яни, хоча поле, на якому знаходиться ділянка, засівається кожен рік.

Контролем слугували зразки ґрунту перелугу на цьому полі. Зразки ґрунту відбирали методом конверта [81] у п'яти точках за горизонтами: 0-20 см, 20-40, 40-60, 60-80, 80-100 см. Ґрунт - сірий лісовий. Характеристику сірого лісового ґрунту наведено в табл. 2.1 (див. розділ 2).

В зразках ґрунту досліджуваної ділянки знайдені залишки стійких гербіцидів: похідні сим-триазинів (симазин, атразин, прометрин), а також похідні феноксикарбонової та бензойної кислот (2,4-Д, дикамба), які широко застосовувались у сільському господарстві.

В контрольних зразках ґрунту залишків пестицидів не було виявлено в жодному горизонті. В результаті проведених досліджень, встановлено нерівномірний розподіл гербіцидів за профілем ґрунту. Результати визначень наведено у табл. 3.4.

Максимальна кількість персистентних гербіцидів виявлена в орному шарі ґрунту (0- 20) см: вміст симазину - 5,0 мг/кг, атразину - 0,4 мг/кг, прометрину - 0,8 мг/кг, 2,4-Д - 3,4 мг/кг, дикамби - 1,6 мг/кг, трефлану - 7,0 мг/кг. Менші концентрації симазину та трефлану виявлені у горизонтах 20 – 40 і 40 – 60 см. В нижніх шарах (60 – 80, 80 – 100 см) досліджуваних гербіцидів не виявлено.

Розподіл персистентних гербіцидів та їх залишків за профілем ґрунту

Назва пестициду	Кількість пестицидів (мг/кг)				
	Глибина відбору зразків (см)				
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
Симазин	5,0± 0,50	0,1± 0,02	0,1± 0,02	н/з	н/з
Атразин	0,4± 0,03	0,2± 0,01	0,16± 0,015	0,1± 0,02	н/з
Прометрин	0,8± 0,05	0,2± 0,05	0,15± 0,01	0,05± 0,01	н/з
2,4 – Д	3,4± 0,45	2,0± 0,40	0,8± 0,04	0,6± 0,03	1,8± 0,25
Дикамба	1,6± 0,40	1,0± 0,25	0,6± 0,10	1,4± 0,30	0,6± 0,20
Трефлан	7,0± 0,80	0,8± 0,10	0,4± 0,02	н/з	н/з
ВСЬОГО	18,2 ±0,37	4,3 ± 0,13	2,21 ± 0,03	2,15 ±0,09	2,4 ±0,22

Примітка: н/з – не знайдено.

Оскільки розчинність атразину та прометрину в воді більша, ніж симазину, це впливало на динаміку їх міграції профілем ґрунту: атразину (0,4 мг/кг) та прометрину (0,8 мг/кг) в верхньому шарі ґрунту (0-20) на порядок менше, ніж симазину (5,0 мг/кг); мігрують ці пестициди практично на глибину до 1 м. 2,4-Д та дикамба були знайдені в усіх горизонтах. Максимальна кількість їх була виявлена в верхньому шарі (3,4 та 1,6 мг/кг). Накопичення для 2,4-Д та дикамби спостерігалось на глибині 80 – 100 см, дикамби - 60 – 80 см. Це явище пояснюється здатністю цих гербіцидів адсорбуватися колоїдними системами ґрунту, що призводить до їх більш тривалого зберігання в нижніх ілювіальних горизонтах.

При вивченні впливу залишкових кількостей персистентних гербіцидів на деякі групи ґрунтового мікробіоценозу відмічається різна чутливість мікроорганізмів, що досліджувались, до їх підвищених концентрацій.

Загальна чисельність аеробних мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому пестицидами, значно зменшується порівняно з контролем у горизонтах 0-20, 20-40 см відповідно у 12,6 та 5,1 рази.

Але їх чисельність у верхньому шарі ґрунту 0-20 см ($0,64 \pm 0,19$ млн. КУО/г), менша ніж у другому горизонті 20-40 см ($0,93 \pm 0,27$ млн. КУО/г). Можливо, це пояснюється тим, що в горизонті 0-20 см загальна кількість залишків непридатних агрохімікатів в 4, 2 рази більша ніж у горизонті 20-40 см, і є максимальною, що призводить до пригнічення загальної чисельності аеробних мікроорганізмів в верхньому горизонті.

У нижніх горизонтах (60 – 80, 80 – 100 см) загальна чисельність мікроорганізмів забрудненого ґрунту порівняно з контролем відрізняється в незначній мірі (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Загальна чисельність мікроорганізмів у ґрунті сховища та контрольної ділянки за горизонтами, млн. КУО/г ґрунту

Місце відбору	Кількість мікроорганізмів на різній глибині відбору зразків				
	0-20 см	20-40 см	40-60 см	60-80 см	80-100 см
Сховище	$0,64 \pm 0,19^*$	$0,93 \pm 0,27^*$	$0,31 \pm 0,23$	$0,020 \pm 0,001$	$0,0038 \pm 0,001^*$
Контроль	$7,85 \pm 0,63$	$4,71 \pm 0,84$	$1,01 \pm 0,06$	$0,010 \pm 0,002$	$0,0021 \pm 0,0001$

Примітка: *різниця в порівнянні з контролем вірогідна при $p < 0,05$.

Чисельність педотрофів у першому та другому горизонті забрудненого ґрунту зменшується у 8,9 та 3,8 рази відповідно ніж у контрольному варіанті (табл.3.6).

Таблиця 3.6

Чисельність педотрофів у ґрунті сховища та контрольної ділянки за горизонтами, тис. КУО/г ґрунту

Місце відбору	Кількість педотрофів на різній глибині відбору зразків зразків				
	0-20 см	20-40 см	40-60 см	60-80 см	80-100 см
Сховище	$2,47 \pm 0,56$	$3,38 \pm 1,38^*$	$0,96 \pm 0,1^*$	$0,22 \pm 0,10^*$	$0,89 \pm 0,36^*$
Контроль	$21,99 \pm 11,26$	$12,98 \pm 3,14$	$4,50 \pm 1,65$	$0,53 \pm 0,09$	$0,93 \pm 0,11$

Примітка: *різниця в порівнянні з контролем вірогідна при $p < 0,05$.

Згідно результатів проведеного нами аналізу спостерігається збільшення кількості міксоміцетів ($11,6 \pm 0,2$ тис. КУО/г) у горизонті 20-40 см забрудненого ґрунту порівняно з контрольним ($4,1 \pm 0,1$) та з горизонтом 0-20 см ($3,2 \pm 0,37$ тис. КУО/г). Результати цього аналізу наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Чисельність мікроміцетів у ґрунті сховища та контрольної ділянки за горизонтами, тис. КУО/г ґрунту

Місце відбору	Кількість мікроміцетів на різній глибині відбору зразків				
	0-20 см	20-40 см	40-60 см	60-80 см	80-100см
Сховище	$3,2 \pm 0,37^*$	$11,6 \pm 0,23^*$	$3,59 \pm 0,58^*$	$0,175 \pm 0,01^*$	$0,08 \pm 0,01^*$
Контроль	$22,9 \pm 0,25$	$4,1 \pm 0,10$	$1,76 \pm 0,21$	$0,34 \pm 0,015$	$0,01 \pm 0,005$

Примітка: *різниця в порівнянні з контролем вірогідна при $p < 0,05$.

Зменшення кількості мікроміцетів у другому горизонті порівняно з контрольним пояснюється тим, що саме в цьому горизонті знайдено максимальну кількість гербіцидів.

Незначні зміни в кількісному складі відмічалися серед оліготрофів в усіх горизонтах порівняно з контрольною ділянкою (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Чисельність оліготрофів у ґрунті сховища та контрольної ділянки за горизонтами, тис. КУО/г ґрунту

Місце відбору	Кількість оліготрофів на різній глибині відбору зразків				
	0-20 см	20-40 см	40-60 см	60-80 см	80-100 см
Сховище	$17,00 \pm 0,74$	$9,97 \pm 0,52^*$	$5,03 \pm 0,13^*$	$1,15 \pm 0,31^*$	$0,64 \pm 0,21^*$
Контроль	$13,73 \pm 0,38$	$11,07 \pm 4,10$	$6,63 \pm 2,54$	$1,94 \pm 0,23$	$0,60 \pm 0,28$

Примітка: *різниця в порівнянні з контролем вірогідна при $p < 0,05$.

Наші дослідження багаторічного впливу персистентних гербіцидів на ґрунтову мікрофлору свідчать про те, що ґрунтові мікроорганізми, як компоненти біогеоценозів, по-різному реагують на високі концентрації гербіцидів.

Порівняно з ґрунтом перелугу (контрольним) відмічено тенденцію до зменшення кількості мікроорганізмів по всіх горизонтах забрудненого ґрунту для загальної чисельності, мікроміцетів, педотрофів.

В той же час залишкові кількості пестицидів не впливають на кількість оліготрофних мікроорганізмів.

Отримані дані яскраво свідчать, що загальна чисельність мікроорганізмів та кількість мікроміцетів за горизонтами дослідженого ґрунту залежать від концентрації накопичених непридатних пестицидів в цих горизонтах.

Таким чином, узагальнюючи отримані результати експериментальних досліджень, слід зазначити, що залишкові кількості непридатних до використання пестицидів у ґрунті старих сховищ можна розглядати як постійно діючий фактор антропогенного впливу на ґрунтовий мікробіоценоз.

Внаслідок дії цього фактору відбувається перерозподіл в чисельності різних груп мікроорганізмів, що входять до його складу: життєдіяльність одних пригнічується, інші виявляються стійкими до високих концентрацій ХЗЗР.

Зменшення чисельності деяких еколого-трофічних груп мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому персистентними гербіцидами можна розглядати як негативний наслідок впливу залишків органічних ксенобіотиків, тому що це призводить до зменшення природного різномайття ґрунтових мікроорганізмів, і як результат - до незворотнього порушення екологічної рівноваги.

3.3. Оцінка впливу забруднення хлорорганічними пестицидами на формування мікробіоценозу ґрунту

Проведено дослідження ґрунту, забрудненого стійкими хлорорганічними пестицидами в чорноземі опідзоленому.

Залишки ізомерів та метаболітів ДДТ та ізомерів ГХЦГ знайдено в усіх зразках ґрунту, відібраних у межах санітарної зони складу отрутохімікатів, у концентраціях, що значно перевищують гранично допустимі рівні (рис.3.9).

Таблиця 3.9

Вміст ізомерів ДДТ, ГХЦГ та їх метаболітів за профілем ґрунту

Відстань від складу, м	Кількість пестицидів (мкг/кг)				
	Глибина відбору зразків (см)				
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
1 м	620,7 ± 0,5	н/з	н/з	н/з	н/з
15 м	490,3 ± 0,3	830,1 ± 0,1	470,4 ± 0,6	20,2 ± 0,2	20,3 ± 0,2
25 м	57,6 ± 0,5	250,3 ± 0,5	138,2 ± 0,1	10,1 ± 0,1	15,7 ± 0,1
50 м	10,2 ± 0,4	20,0 ± 0,4	200,8 ± 0,4	6,3 ± 0,3	10,7 ± 0,2

Максимальний вміст суми ізомерів та метаболітів ДДТ - 831,3 мкг/кг ґрунту (8,3 ГДК) виявлено на відстані 15м від складу на глибині 20-40см. Радіус ареалу забруднення становить 50 м. Забруднення території складу досягає ще вищих значень: сума ізомерів та метаболітів ДДТ, що складає 1857,9 мкг/кг (18,6 ГДК), а сума ізомерів ГХЦГ- 2030,6 мкг/кг (20,3 ГДК). Загалом, простежується поступове зменшення вмісту ХОП при віддаленні від складу. Так, на відстані 50 м в орному шарі ґрунту перевищень ГДК вже не спостерігається, хоча на глибині 40-60 см вміст ХОП в 2,5 рази перевищує ГДК. Ці дані свідчать про вертикальну міграцію ХОП в ґрунті.

Для мікробіологічних досліджень відібрано зразки ґрунту на відстані 1м від складу (вміст ДДТ складає 603,3 мкг/кг, що перевищує ГДК в 6 разів), зразок ґрунту перелогу (контроль) та зразок ґрунту перелогу, в який вносили ДДТ у кількості 10 ГДК.

В результаті проведених досліджень встановлено, що загальна кількість органотрофних мікроорганізмів у контролі ($8,4 \pm 0,6$ млн КУО/ г) не відрізняється від їх кількості в ґрунті складу ($8,4 \pm 0,4$ млн КУО/ г). У зразку, в який внесено 10 ГДК ДДТ відбувається незначне пригнічення загальної мікрофлори ($6,6 \pm 0,4$ млн КУО/ г). Дані мікробіологічного аналізу загальної чисельності органотрофних мікроорганізмів наведено на рис. 3.1.

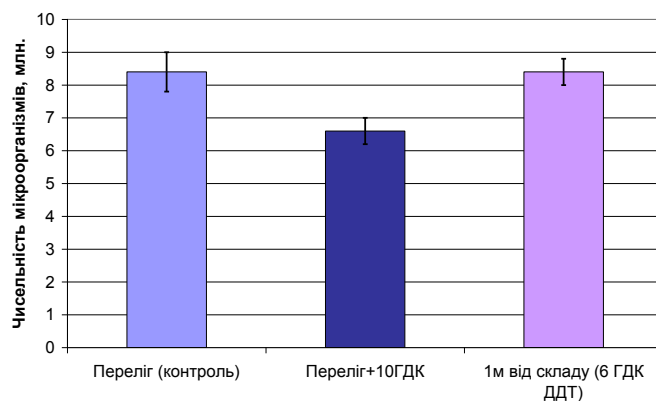


Рис. 3.1. Загальна чисельність органотрофних мікроорганізмів, млн КУО

В той же час, що співвідношення різних груп ґрунтових мікроорганізмів в цих варіантах значно змінюється. Результати аналізу свідчать, що спостерігається тенденція зменшення кількості спорових бактерій у ряду зразків ґрунту: переліг → переліг + 10 ГДК ДДТ → склад отрутохімікатів. Щодо неспорових бактерій, то у ареалі сховища їх кількість значно перевищує аналогічний показник для інших зразків. Короткочасний вплив 10 ГДК ДДТ інгібує розвиток загальної мікрофлори за рахунок зменшення кількості спорових бактерій, при цьому кількість неспорових бактерій незначно відрізняється від контрольного (рис. 3.2).

Отже, в ґрунті зони забруднення за багато років сформувався мікробний ценоз, стійкий до високих концентрацій пестицидів та їх метаболітів, який

характеризується зменшенням частки спорових мікроорганізмів при незначній зміні загальної кількості мікроорганізмів.

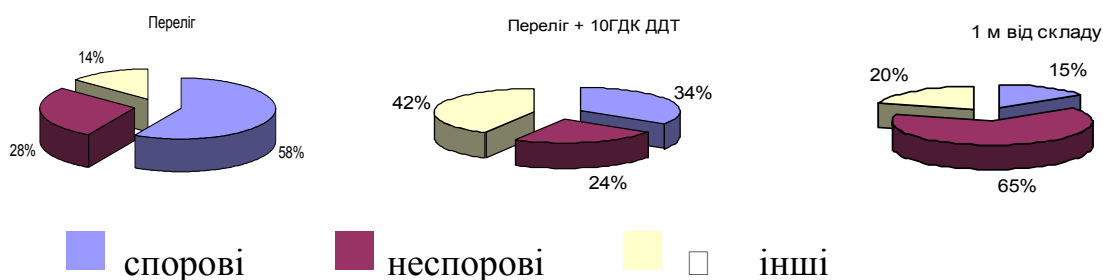


Рис.3.2 Частка спорових та неспорових бактерій (% від загальної кількості)

Такі співвідношення спорових та неспорових бактерій дають підстави стверджувати, що у ґрунті складу процес мінералізації органічного субстрату не завершився, самоочищення ґрунту від ксенобіотиків органічної природи ще триває. Проведено дослідження впливу високих концентрацій пестицидів у ґрунті на чисельність бактерій роду *Pseudomonas* (табл. 3.9). У ґрунті ареалу складу виявлено найбільшу кількість цих бактерій. На формування мікробних ґрунтових ценозів активно впливають також стрептоміцети і мікроскопічні гриби.

Таблиця 3.9.

Чисельність бактерій роду *Pseudomonas*, млн. КУО/г ґрунту

Чисельність псевдомонад за варіантами		
Переліг	Переліг+ 10 ГДК	1 м від складу(6 ГДК)
4,46 ± 0,3	5,2 ± 0,6	10,4 ± 0,6

Наявність у ґрунті органічних ксенобіотиків змінює чисельність цих мікроорганізмів (рис.3. 3). Високі концентрації ДДТ не пригнічують розвиток стрептоміцетів, що можна пояснити їх стійкістю до цього пестициду.

Чисельність мікроміцетів в ґрунті зменшується в ряду: переліг→ переліг + 10 ГДК ДДТ→ склад отрутохімікатів. Це свідчить про незначний вплив пестицидів на стійкість мікроскопічних грибів до такого типу забруднень.

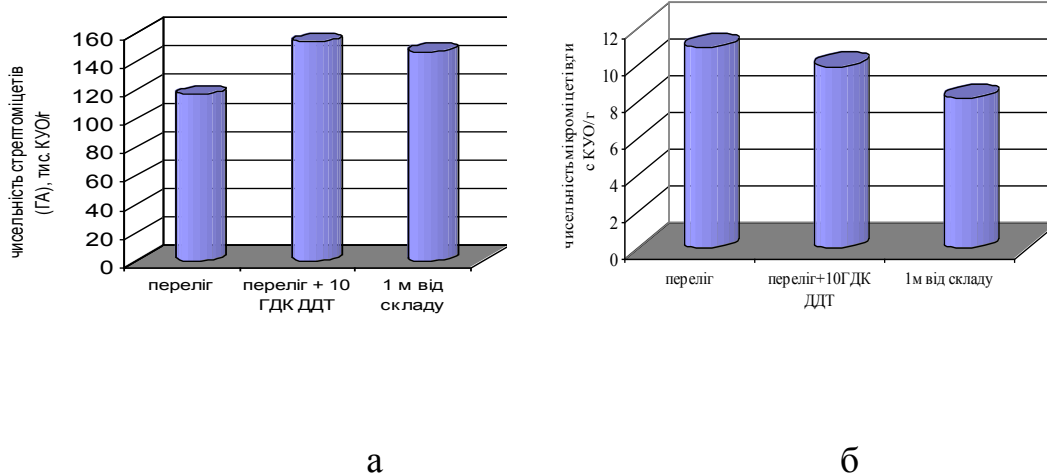


Рис. 3.3. Чисельність стрептоміцетів (а) та мікроміцетів(б), тис. КУО/г

Дані, отримані в результаті мікробіологічного аналізу ґрунту, відібраного в межах території складу агрохімікатів (6 ГДК ДДТ) та ґрунту, забрудненого ДДТ (10 ГДК), свідчать, що реакція мікроорганізмів різних систематичних груп залежить від дози пестициду та часу його впливу на мікробіоценоз.

При тривалому впливі ХОП та їх метаболітів, впродовж багатьох років у ґрунті сховища формується мікробіоценоз, здатний витримувати значне хімічне навантаження. Загальна кількість органотрофних мікроорганізмів у ґрунті складу та перелігу практично не відрізняється, але змінюється співвідношення груп мікроорганізмів. В ґрунті біля складу частка спорових зменшується в 4 рази порівняно з контролем. Чисельність неспорових бактерій роду *Pseudomonas* в ґрунті сховища максимальна.

Кількість мікроміцетів при полікомпонентному забрудненні ґрунту сховища впродовж десятиріч зменшується в 1,3 рази порівняно з контролем, кількість стрептоміцетів, навпаки, збільшується. Стимулюється розвиток стрептоміцетів можливо тому, що вони є більш стійкими до впливу саме

цього ксенобіотика. Чисельність та зміни співвідношення у складі комплексів різних еколого-систематичних груп мікроміцетів – важливий показник біологічної індикації ґрунту, адже вони виконують важливу роль мінералізації органічної речовини ґрунту, зумовлюючи збагачення їх вуглецем, фосфором, органічними кислотами та доступними мікроелементами.

Актиноміцети – широко розповсюджені мікроорганізми, що беруть участь у деградації складних сумішей біополімерів рослин, тварин та мікроорганізмів, також відіграють важливу роль в процесах утворення гумусу. Крім того, стрептоміцети продукують ферменти контролю фітопатогенних грибів, які посилюють антагоністичну активність актиноміцетів.

Мікроміцети – група еукаріотичних мікроорганізмів, серед яких найбільше представників, що здатні синтезувати екзоглюконази та поглинати значну кількість азотних сполук ґрунту для формування міцелію.

Ґрунтові мікроміцети беруть участь у природному кругообігу речовин у природі та формуванні родючості ґрунтів. Вони істотно впливають на ґрунотворні процеси, що обумовлено синтезом специфічних речовин (меланінів, фенолів, гумінових кислот), які входять до складу гумусу. Гриби відіграють провідну роль у трансформації органічних сполук, це насамперед, розклад целюлози, лігніну та пектинових речовин

Таким чином, пестициди виявляють вибіркочу дію на мікрофлору: коли одні групи мікроорганізмів пригнічуються, інші ж, навпаки, потрапляють в умови, сприятливі для розвитку, в результаті чого відбувається перебудова мікробного комплексу. Враховуючи те, що історія масового використання ХОП довготривала, залишки їх в ґрунтах слід розглядати як постійний фактор впливу на мікробіоценоз ґрунту в зонах розташування сховищ отрутохімікатів.

3.4. Визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії гербіцидів

Визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії пестицидів є першим етапом для пошуку мікроорганізмів - потенційних деструкторів пестицидів. Вочевидь, що тільки серед мікроорганізмів, стійких до токсичної дії пестицидів, найбільша вірогідність знайти мікроорганізми-деструктори, які можна досліджувати в подальшому на здатність до деградації цих ксенобіотиків.

Нечутливі (резистентні) мікроорганізми – мікроорганізми, які не гинуть під впливом токсичної дії пестицидів і їх ріст не пригнічується. Гербіциди, внаслідок того, що їх вносять безпосередньо в ґрунт, є найбільш небезпечними для ґрунтової мікрофлори. Тому особливу зацікавленість має пошук мікроорганізмів, нечутливих до дії тих гербіцидів, які сьогодні широко використовують в сільському господарстві: гезагарду, атразину, дуалу, примекстри.

Для визначення чутливості до дії пестицидів було використано метод дифузії в агаризоване середовище з використанням паперових дисків, модифікований в ІАП НААН [67].

Модифікація полягала в заміні антибіотика досліджуваним пестицидом, в розрахунку концентрації пестициду для просякування ним паперових дисків та підбору умов проведення дослідження. Принцип методу полягає в пригніченні або обмеженні росту мікроорганізмів під впливом пестициду, який дифундує в агаризоване середовище.

Показником рівня чутливості мікроорганізму до ксенобіотиків є ширина зони затримки росту мікроорганізму, що тестується, на поверхні агаризованого поживного середовища навкруги стандартних дисків з фільтрувального паперу діаметром 6 мм, просякнених розчинами досліджуваних гербіцидів: гезагарду, атразину, дуалу, примекстри. Для приготування розчинів досліджуваних пестицидів нами розраховано їх концентрації згідно доз, рекомендованих для

застосування в сільському господарстві з урахуванням норми внесення, щільності ґрунту, глибини внесення, відсоткової концентрації за діючою речовиною.

Наводимо приклад такого розрахунку для прометрину, норма витрат якого складає 3 кг/га:

1. Маса 1 га ґрунту складає $1,5 \cdot 10^9$ г/га (враховуючи, що глибина внесення препарату 10 см, щільність ґрунту $1,5$ г/см³).

2. Маса діючої речовини прометрину, яка потрапляє в цю масу ґрунту, складає $1,5 \cdot 10^3$ г (враховуючи, що згідно інструкції по застосуванню норма витрат прометрину 3 кг/га, а кількість діючої речовини в препараті складає 50 %).

3. В $1,5 \cdot 10^9$ г ґрунту потрапляє $1,5 \cdot 10^3$ г діючої речовини прометрину, то в 1г ґрунту потрапляє 10^{-6} г (1,0 мкг/г) діючої речовини прометрину.

4. Концентрація розчину прометрину для обробки паперових дисків складає 1 мкг/мл. Наведені розрахунки узагальнено в таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

Розрахунок концентрації прометрину, яку використовують для дослідження

Визначуваний показник	Значення показника
1	2
Норма застосування	3 кг/га
% діючої речовини в препараті	50%
Норма застосування за діючою речовиною	1,5 кг/га
1 га	10 000 м ²
Глибина внесення	0,1 м
Об'єм ґрунту до заданої глибини	1000 м ³ /га
Густина (щільність) ґрунту	1,5г/см ³
1	2

Маса ґрунту в шарі 10 см на площі 1 га	$1000 \text{ м}^3 / \text{га} \cdot 1500 \text{ кг} / \text{м}^3 = 1500000$ $\text{кг/га} = 15 \cdot 10^9 \text{ г/га}$
Норма застосування на 1 г ґрунту діючої речовини	10^{-6} г (1 мкг)
Концентрація розчину для обробки дисків	1 мкг/мл

Приготовлені таким чином розчини для обробки паперових дисків брали в таких концентраціях: прометрин - 1 мкг/мл, атразин - 1 мкг/мл, дуал - 0,43 мкг/мл, примекстра - 1,15 мкг/мл.

За допомогою методу дифузії в агар з використанням дисків ми вивчили вплив гербіцидних препаратів гезагارد, примекстра, дуал, атразин на деякі спорові і неспорові бактерії. Для цього використовували 19 штамів ґрунтових мікроорганізмів як із колекції мікроорганізмів ІАП НААН. Досліджувані штами віднесено до родів *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Azotobacter*, *Xantomonas*, *Pseudomonas*. (додаток А, таблиця А.1).

Інокулят із неспорових бактерій готували з чистої 18-24-годинної культури, із спорових - 36-48 годинної культури мікроорганізмів, які вирости на поверхні твердого поживного середовища. Для цього мікробіологічною петлею 5-10 колоній вносили у пробірку зі стерильним фізіологічним розчином хлориду натрію згідно оптичного стандарту каламутності на 10 одиниць. Такий інокулят містить $5 \cdot 10^7$ мікробних клітин в 1 мл зависі. Інокулят об'ємом 0,1 мл піпеткою наносили на поверхню твердого поживного середовища та розтирали за допомогою шпателя Дригальського.

В залежності від роду досліджуваних мікроорганізмів, готували специфічні середовища згідно рецептури. Для *Pseudomonas* - МПА, для *Bacillus*, *Flavobacterium* - горохове середовище, для *Azotobacter* - середовище Федорова, для *Xantomonas*- картопляний агар.

Диски, просякнуті розчинами гербіцидів в різних концентраціях, стерильним пінцетом накладали на поверхню засіяного поживного середовища на однаковій відстані один від одного і приблизно на відстані 2 см від краю

чашки. В одній чашці розташовували не більше 6 дисків. Засіяні чашки інкубували в термостаті при 28 - 32⁰С впродовж 18 - 24 годин для неспорових і 36 - 48 годин - для спорових мікроорганізмів. При цих умовах формуються типові для досліджуваних бактерій колонії.

Критерієм для визначення чутливості є розмір зони затримки росту досліджуваних культур навколо дисків з гербіцидами. Облік зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків з гербіцидами проводили у проникаючому світлі. За допомогою лінійки заміряли діаметри зон затримки росту навколо дисків, включаючи діаметр самих дисків, з точністю до 1 мм. З урахуванням розмірів діаметрів зон затримки росту під впливом розчинів гербіцидів, досліджувані мікроорганізми були умовно розподілені на три групи:

- 1) чутливі (зона діаметром більше 10 мм),
- 2) середньочутливі (зона діаметром 7-9 мм),
- нечутливі (зона діаметром 6 мм).

Як свідчать отримані дані, досліджені гербіциди по-різному впливають на ріст бактерій. Максимальна кількість стійких штамів відмічена до дії гезагарду, мінімальна - до дії дуалу. Тобто, здатність пригнічувати ріст бактерій зменшується в ряду наступним чином: дуал → примекстра → атразин → гезагард (рис.3.4).

Використання даного методу дозволило охарактеризувати чутливість 19 штамів ґрунтових мікроорганізмів, які відносяться до 6 родів: *Azotobacter* (2 штами), *Bacillus* (3 штами), *Pseudomonas* (7 штамів), *Agrobacterium* (4 штами), *Flavobacterium* (2 штами), *Xantomonas* (1 штам) до дії гезагарду (1 мкг/мл), атразину (1 мкг/мл), дуалу (0,43 мкг/мл), примекстри (1,15 мкг/мл). Результати цих еспериментів узагальнено в Додатку А.

Апробація методу дифузії в агар за допомогою дисків з фільтрувального паперу для визначення чутливості мікроорганізмів, дає нам підстави стверджувати, що його можна використовувати як швидкий, економічний

експрес-метод з метою пошуку нечутливих до токсичної дії пестицидів мікроорганізмів.

Отримані значення діаметрів зон затримки росту по кожному штаму порівнювали з наведеними значеннями та розподіляли досліджувані штами за трьома категоріями чутливості.

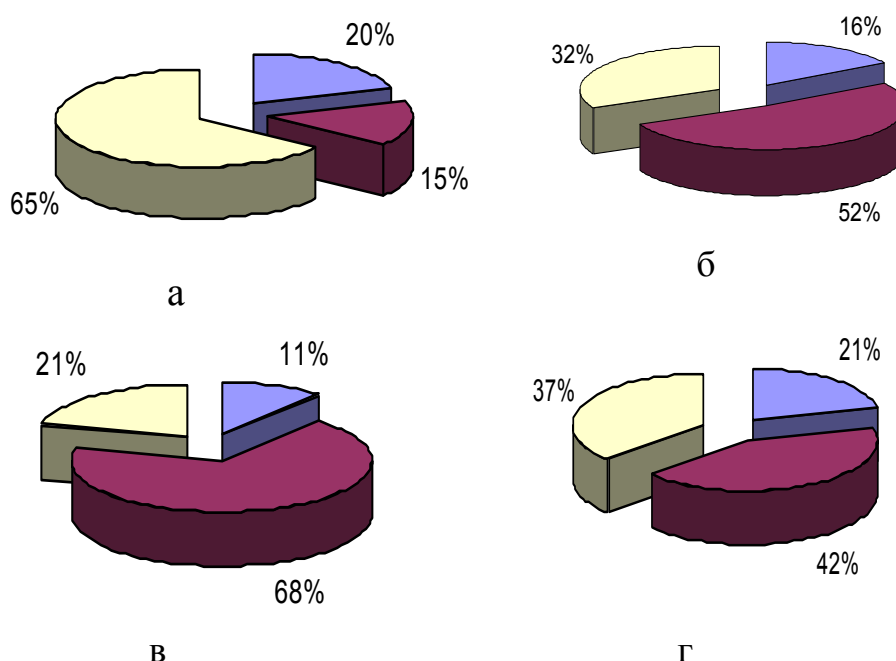


Рис. 3.4. Розподіл штамів ґрунтових бактерій за рівнем чутливості до гербіцидів: а – гезагарду, б – атразину, в – лвалу, г – примекстри

3.5. Виділення ґрунтових бактерій, стійких до високих концентрацій гербіцидів

Для виділення стійких до симтриазинових гербіцидів мікроорганізмів суспензію із ґрунту сховища висівали на специфічне середовище МПА з додаванням 10 мг/л (20 ГДК) прометрину. Контролем слугувало середовище

МПА, в яке не додавали прометрин. Результати посіву після 2 діб інкубування при 28°C наведено в табл. 3.11

Таблиця 3.11

**Чисельність мікроорганізмів, стійких до прометрину,
млн КУО/г ґрунту**

Горизонт	Середовище	Ґрунт сховища	Ґрунт перелогу
0-20 см	МПА	0,78	7,85
	МПА+ прометрин	0,59	2,85
20-40 см	МПА	0,93	4,71
	МПА+ прометрин	0,52	1,71
40-60 см	МПА	0,31	1,01
	МПА+ прометрин	0,15	0,1
60-80 см	МПА	0,02	0,01
	МПА+ прометрин	0,01	0,001
80-100 см	МПА	0,01	0,002
	МПА+ прометрин	0,001	0,0002

Для визначення частки стійких до прометрину мікроорганізмів використовували запропоновану нами формулу

$$\omega \text{ ст.} = \frac{N (\text{МПА+ прометрин})}{N (\text{МПА})} \quad (3.2)$$

де:

ω ст.-частка стійких до прометрину мікроорганізмів,

N (МПА)- кількість мікроорганізмів, які вирости на середовищі МПА,

N (МПА+ прометрин)- кількість мікроорганізмів, які вирости на середовищі МПА+ 10 мг/л прометрину.

Результати визначення частки стійких до атразину та прометрину мікроорганізмів, наведено на рис. 3.5. Найбільша частка стійких до прометрину мікроорганізмів виявлена в ґрунті, забрудненому персистентними гербіцидами порівняно з контрольним.

У горизонтах 0-20, 20-40 см, де накопичено максимальну кількість гербіцидів, частка стійких до прометрину мікроорганізмів становить 75%,

56%, а порівняно з ґрунтом перелугу – цей показник відповідно складає 36%. Збільшення частки стійких до прометрину мікроорганізмів у ґрунті, в якому нагромаджено залишки персистентних хімічних препаратів, майже у 2 рази пояснюється здатністю мікроорганізмів адаптуватися до значних хімічних навантажень.

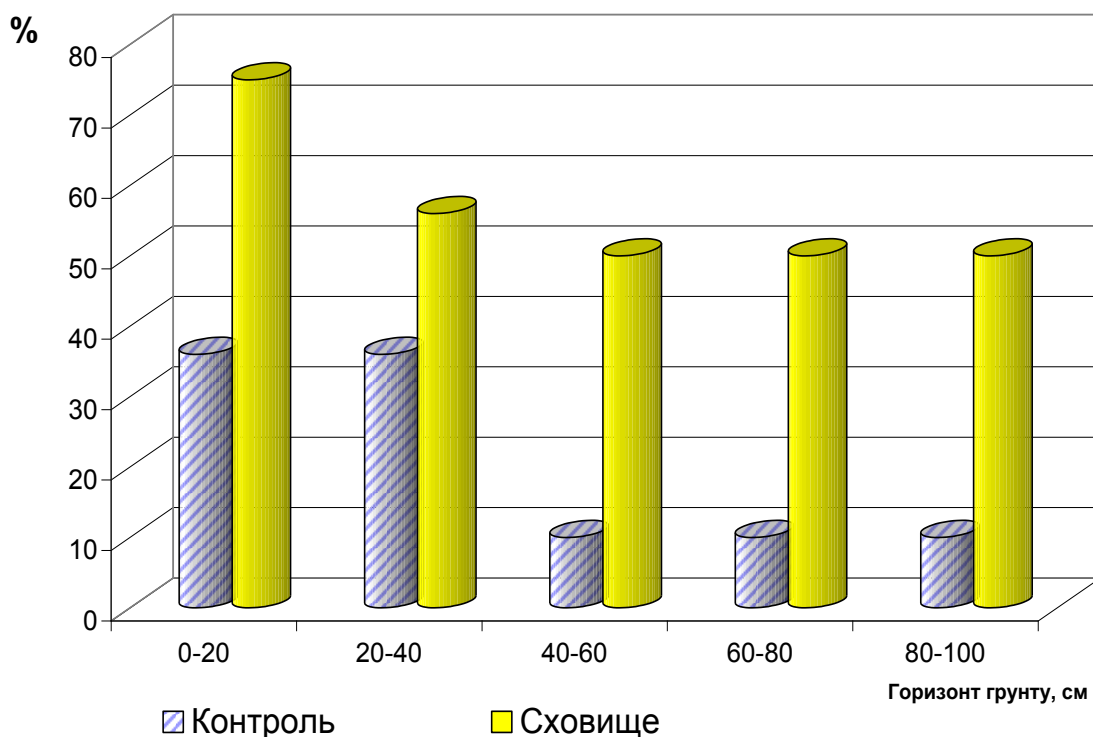
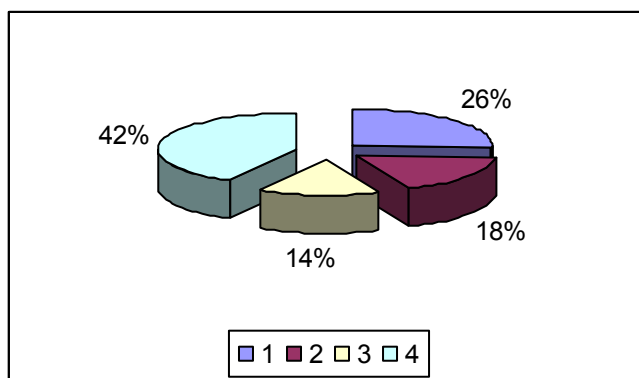


Рис. 3.5. Частка стійких до прометрину мікроорганізмів у ґрунті сховища та ґрунті перелугу (%).

Залишкові кількості пестицидів в ґрунті, на якому було розташоване сховище пестицидів, є селективним фактором відбору стійких до пестицидів мікроорганізмів.

В чистій культурі виділяли аеробні мікроорганізми із зразка ґрунту горизонту 0-20 см, тобто із зразка, в якому виявлено максимальну частку стійких до прометрину мікроорганізмів. При посіві ґрунтової суспензії на середовище МПА з додаванням прометрину в концентрації 10 мг/л, виділено в чистій культурі 59 ізолятів бактерій, які здатні рости на цьому середовищі.

Визначено співвідношення чисельності виділених ізолятів бактерій 4 родів до загальної чисельності бактерій, які вирости на середовищі МПА з додаванням прометрину (рис 3.6).



1- *Bacillus*; 2- *Micrococcus*; 3- *Sarcina*; 4 – *Pseudomonas*

Рис.3.6. Частка родів бактерій, стійких до дії прометрину (%)

Для підтвердження стійкості виділених бактерій до високих концентрацій прометрину ми використали апробовану нами методику визначення чутливості мікроорганізмів до пестицидів за допомогою дисків з фільтрувального паперу (додаток А), просякнених розчинами прометрину в концентраціях 2 ГДК (0,05 мг/л), 5 ГДК (1 мг/л), 10 ГДК (5 мг/л), 20 ГДК (20 мг/л). Отримані результати наведено у табл. 3.12.

Критерієм стійкості виділених бактерій слугував діаметр зон затримки росту мікроорганізмів.

Таблиця 3.12

Діаметри зон затримки росту бактерій під впливом прометрину, мм

Бактерії, родів	Концентрація прометрину			
	2 ГДК	5 ГДК	10 ГДК	20 ГДК
<i>Bacillus</i>	6,3±0,6	6,7±0,3	7,3±0,6	8,3±0,6
<i>Micrococcus</i>	8,3±0,6	7,6±0,6	9±0	9±0
<i>Sarcina</i>	7±0	8,3±0,6	8,3±0,6	9±0
<i>Pseudomonas</i>	6±0	6±0	6±0	6±0

Як видно з результатів, виділені із ґрунту сховища бактерії слід розташувати в порядку зменшення стійкості до прометрину таким чином: *Pseudomonas* > *Bacillus* > *Micrococcus* > *Sarcina*. Отже, псевдомонади, виділені із ґрунту старого сховища, виявились найбільш стійкими до прометрину в концентраціях 2, 5, 10, 20 ГДК.

Таким чином, результати мікробіологічних аналізів свідчать, що є мікроорганізми стійкі до токсичної дії високих концентрацій пестицидів. Серед таких мікроорганізмів були виділені в чистій культурі бактерії, які за ідентифікаційними морфолого-культуральними та біохімічними ознаками було віднесено до 4 родів: *Bacillus*; *Micrococcus*; *Sarcina*; *Pseudomonas* (Додаток Б).

Отже, високі залишкові кількості пестицидів у ґрунті відіграють роль селективного фактору, внаслідок дії якого в мікробіоценозі залишаються мікроорганізми, стійкі до їх токсичної дії. Ці мікроорганізми можуть бути потенційними деструкторами гербіцидів. Виділення стійких мікроорганізмів із ґрунтів, в яких нагромаджено залишкові кількості ХЗР, можна розглядати як один із шляхів пошуку потенційних деструкторів гербіцидів.

3.6. Пошук і відбір штамів бактерій роду *Pseudomonas*, нечутливих до токсичної дії гербіцидів

Бактерії роду *Pseudomonas* - цікава в науковому і практичному відношенні група мікроорганізмів. Вони є типовими представниками популяцій, які колонізують ризосферу та кореневу поверхню рослин.

Впливають на засвоєння важкорозчинних елементів, утилізують різні вуглеводні, амінокислоти, багатоатомні спирти, органічні кислоти, що виділяються рослинами у ґрунт та продукують ряд вторинних метаболітів - антибіотиків, Fe-хелатуючих сидерофорів, синтез яких часто пов'язаний із

супресією фітопатогенної мікрофлори флюоресцентними псевдомонадами в ризосфері різних культур.

Псевдомонади синтезують ряд аналогів рослинних гормонів, які позитивно впливають на розвиток рослин, здатні до фіксації атмосферного азоту.

Бактерії роду *Pseudomonas* широко розповсюджені у біосфері, беруть активну участь в процесах мінералізації органічних сполук, очищенні навколишнього середовища від забруднення.

Різноманітність біосинтетичних реакцій, потужна ферментативна система, висока швидкість росту на простих за складом середовищах, адаптивна здатність та здатність до розкладання багатьох ксенобіотиків дозволяє розглядати цю групу мікроорганізмів як перспективний об'єкт для пошуку серед них деструкторів пестицидів.

Об'єктами для дослідження були взяті бактерії роду *Pseudomonas*. З метою пошуку нечутливих до дії гербіцидів гезагарду, атразину, дуалу та примекстри було використано модифікований нами метод дифузії в агар із застосуванням паперових дисків.

Приклад розрахунку досліджуваних концентрацій гербіцидів наведено в розділі 3.3 Дози гербіцидів були еквівалентні дозам, рекомендованим для застосування в сільському господарстві. Досліджено чутливість 101 ґрунтових бактерій роду *Pseudomonas* (з них 95 колекційних штамів та 6 ізолятів, виділених нами із ґрунту), які відносяться до 7 видів: *P.aeruginosa*, *P.fluorescens*, *P.aureofaciens*, *P.aurantiaca*, *P.alcaligenes*, *P.pseudoalcaligenes*, *P.mendocina*.

Інтерпретацію та облік результатів проводили згідно з методичними вказівками "Визначення чутливості мікроорганізмів до гербіцидів методом дифузії в агар". За ступенем чутливості всі штами псевдомонад було умовно розподілено на 3 групи: нечутливі, середньочутливі, чутливі. Результати вивчення чутливості псевдомонад до цих гербіцидів наведені в додатку Б та узагальнено на рис.3.7.

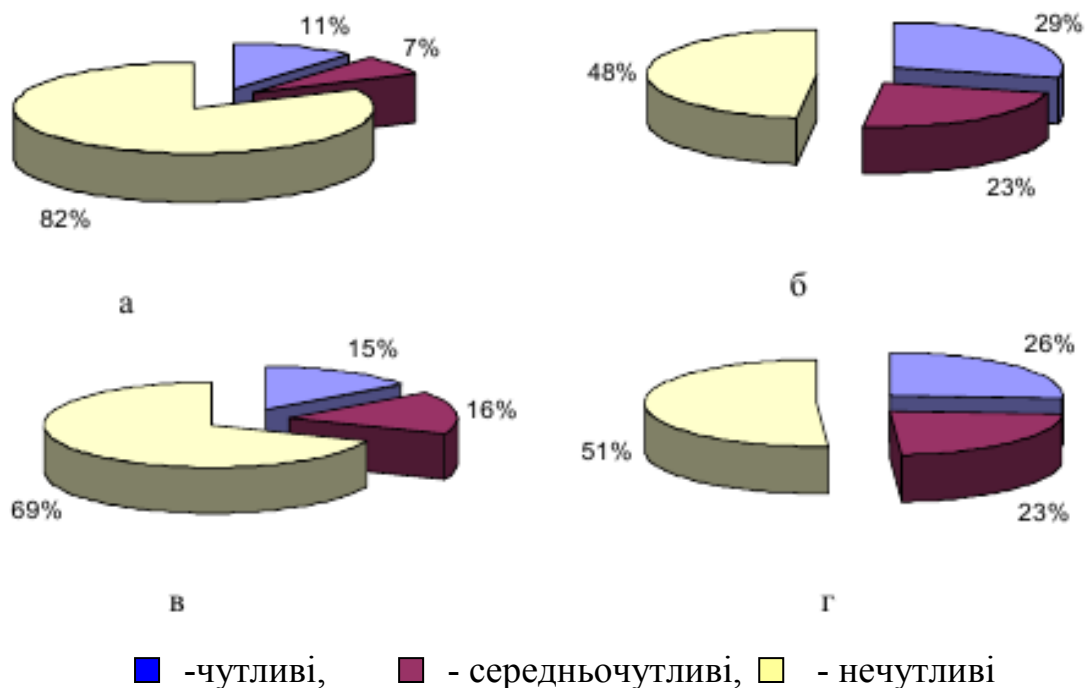


Рис. 3. 7. Розподіл бактерій роду *Pseudomonas* за рівнем чутливості до гербицидів: а - гезагарду, б - атразину, в –дуалу; г - примекстри

Результати досліджень показали, що представники роду *Pseudomonas* по-різному реагують на вплив гербицидів. Це обумовлюється видовою приналежністю мікроорганізму, а іноді і властивостями самого штаму.

Гербициди неоднаково впливають на ріст псевдомонад, що пояснюється хімічною будовою речовини та її розчинністю. Для кожного препарату визначена різна кількість резистентних штамів (рис.3.8).

Серед досліджених 101 штамів псевдомонад нечутливими до атразину виявились 48 штамів, до гезагарду - 82 штами, до дуалу – 69 і до примекстри-51 штама (Додаток В).

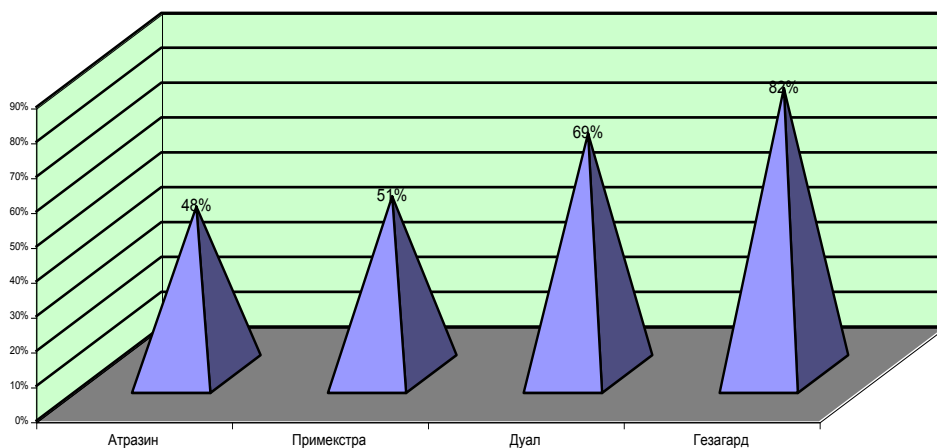


Рис. 3.8. Кількість нечутливих до гербіцидів штамів бактерій роду *Pseudomonas*

Гезагард найменше пригнічує життєдіяльність псевдомонад (82% нечутливих до його дії). Найбільше пригнічує ріст цих бактерій атразин (48% - нечутливих штамів).

Таким чином, визначено чутливість бактерій роду *Pseudomonas* до гербіцидів гезагард, атразин, дуал, примекстра методом дифузії в агар з використанням методу паперових дисків.

РОЗДІЛ 4.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Забруднення ґрунту залишками пестицидів є важливою екологічною проблемою у світі. Кількості, в яких пестициди можуть потрапляти в навколишнє середовище, на думку багатьох дослідників, значно перевищують здатність природи до самоочищення. Негативний ефект від застосування пестицидів багато в чому зумовлюється тим, наскільки швидко і в якому обсязі відбувається їх розклад та детоксикація у ґрунті. Нині відомі термічні, хімічні та біологічні способи утилізації токсичних відходів. Термічні та хімічні є високоенергозатратними методами. Альтернативою їм можна вважати біологічні методи знешкодження пестицидів: використання здатності деяких рослин накопичувати пестициди та здатності мікроорганізмів до розкладу синтетичних органічних речовин.

Дослідження щодо мікробіологічного розпаду пестицидів особливо актуальні з позиції очищення ґрунтів України від залишків пестицидів і запобігання їх нагромадженню у ґрунті та розповсюдження в інші об'єкти навколишнього середовища .

Зрозуміло, що тільки нечутливі до дії пестицидів мікроорганізми (ріст, яких не пригнічується під дією ХЗР) можуть бути здатними до їх розкладу. З метою пошуку нечутливих до дії пестицидів штамів мікроорганізмів використано експрес-метод визначення чутливості мікроорганізмів щодо пестицидів з використанням дисків з фільтрувального паперу.

Для проведення досліджень було використано методичні вказівки “Визначення чутливості мікроорганізмів до пестицидів методом дифузії в агар з використанням паперових дисків”. Метод для визначення чутливості мікроорганізмів до пестицидів з використанням дисків з фільтрувального паперу, який дозволяє швидко оцінити рівень чутливості мікроорганізмів різних родів до пестицидів та відібрати нечутливі до їх токсичної дії штами.

Отримані дані з використанням розробленого методу дають змогу стверджувати, що гербіциди по-різному впливають на ріст досліджуваних бактерій родів *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Xantomonas*. Аналізуючи результати проведених досліджень, виявилось, що неспорові бактерії роду *Pseudomonas* можна вважати найстійкішими щодо дії зазначених гербіцидів.

Мікроорганізми, які зберігають життєздатність в умовах довготривалого впливу тих чи інших пестицидів, є стійкими до їх токсичної дії і можуть бути потенційно здатними до їх біодеградації. в лабораторних умовах мікроорганізми можуть розкласти широкий спектр пестицидів (таблиця 4.1)

Таблиця 4.1

Мікроорганізми, здатні до розкладання пестицидів

Мікроорганізми (родів)	Сим- тризини	ХОП	Нітрофе- ноли	Фенілсе- човини	Фосфор- органічні Кислоти	Фенілкар- бамати	Хлоровані аліфатичні кислоти	Феніл кар- бамати
<i>Achromobacter</i>	+					+		
<i>Acinetobacter</i>					+			
<i>Agrobacterium</i> ,					+			+
<i>Bacillus</i>	+			+	+		+	+
<i>Corynebacterium</i>	+							
<i>Flavobacterium</i> ,			+		+	+	+	+
<i>Klibsiella</i>						+		
<i>Pseudomonas</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Sarcina</i>				+				
<i>Xanthomonas</i>						+		
<i>Aspergillus</i>	+			+	+	+	+	+
<i>Fusarium</i>	+			+		+	+	+
<i>Penicillium</i> ,	+		+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i>	+			+	+	+	+	+

Примітка: + здатні до розкладу

Аналіз вітчизняних та іноземних літературних джерел свідчать, що багато синтетичних органічних сполук можуть розкладатися яким-небудь видом бактерій роду *Pseudomonas*.

Отже, різноманітність біосинтетичного потенціалу, потужна ферментативна система, висока швидкість росту на простих за складом середовищах, адаптивна здатність та здатність до розкладання багатьох ксенобіотиків дозволяє розглядати бактерії роду *Pseudomonas* як перспективний об'єкт для пошуку серед цих мікроорганізмів деструкторів пестицидів.

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників, які також відмітили стійкість цих бактерій до багатьох хімічних речовин та їх здатність завдяки ферментативній лабільності розкладати широкий спектр синтетичних органічних сполук. Результати досліджень Л.І.Гвоздяка, О.А.Кіпріанової, В.П.Тульчинської, Р.П.Наумової дають нам підстави розглядати псевдомонади як перспективний об'єкт для пошуку серед них мікроорганізмів-деструкторів пестицидів

Аналіз літературних джерел свідчить, що широкомасштабне використання стійких ХОП – ГХЦГ, ДДТ призвело до накопичення їх та їхніх метаболітів в ґрунті. Цікавим науковим завданням є дослідження та вивчення питання як впливає полікомпонентне забруднення поллютантами, ксенобіотиками їх метаболітами, ізомерами та залишками на формування мікробного ценозу ґрунту.

Нами оцінено вплив стійких хлорорганічних пестицидів в зоні недіючого складу отрутохімikatів (с.Самчики Старокостянтинівського району Хмельницької області) на мікрорганізми забрудненого ґрунту.

В ґрунті зони забруднення (6 ГДК ДДТ) за багато років сформувався мікробний ценоз, стійкий до високих концентрацій пестицидів та їх метаболітів, який характеризується незначною зміною загальної кількості мікроорганізмів.

В той же час змінюється співвідношення спорових та неспорових бактерій. У ґрунті біля складу частка неспорових бактерій максимальна.(65% порівняно з контролем 15%). Чисельність бактерій роду *Pseudomonas* є

найбільшою в ґрунті, забрудненому 6 ГДК ДДТ ($10,4 \pm 0,6$ млн КУО порівняно з контролем - $4,46 \pm 0,3$ млн КУО).

Отримані результати мікробіологічних аналізів свідчать, що процес самоочищення ґрунту від ксенобіотиків органічної природи ще не завершився, з іншого боку це підтверджують і дослідження методом ГРХ забрудненого ХОП ґрунту.

Кількість мікроміцетів при полікомпонентному забрудненні ґрунту складу зменшується в 1,3 рази порівняно з контролем, кількість стрептоміцетів, навпаки, збільшується. Розвиток стрептоміцетів пояснюється тим, що вони є більш стійкими до впливу ДДТ та його метаболітів, ніж інші еколого-трофічні групи.

Проведено аналіз ґрунту, забрудненого персистентними гербіцидами (Вінниця, Інститут кормів НААН). Результати експериментальних досліджень свідчать, що загальна чисельність мікроорганізмів та чисельність педотрофів у забрудненому ґрунті, зменшується порівняно з контролем у першому та другому горизонтах, в яких накопичено максимальну кількість гербіцидів.

У нижніх горизонтах (60-80, 80-100 см) загальна чисельність мікроорганізмів забрудненого ґрунту порівняно з контролем відрізняється незначною мірою. Кількість оліготрофів у контрольному та забрудненому ґрунті практично не змінюється.

Відмічено збільшення кількості грибів у горизонті 20-40 см забрудненого ґрунту порівняно з контрольним. У верхньому горизонті сховища спостерігали зменшення кількості мікроскопічних грибів порівняно з ґрунтом перелогу майже в 10 разів.

Зменшення кількості мікроміцетів, ймовірно, можна пояснити тим, що саме в цьому горизонті знайдено максимальну кількість гербіцидів.

Отже, мікробний ценоз ґрунту в зоні розташування складів та сховищ з непридатними пестицидами здатен витримувати значне хімічне навантаження. Специфіка його формування полягає в тому, що залишки персистентних

пестицидів по-різному впливають на ґрунтову мікрофлору: чисельність одних пригнічується, інших навпаки, стимулюється.

В наших дослідженнях висвітлено, що у ґрунті, забрудненому впродовж десятиріч непридатними пестицидами, виживають мікроорганізми, стійкі до токсичної дії високих концентрацій пестицидів.

Мікробіологічні дослідження ґрунтів, забруднених персистентними пестицидами є передумовою вирішення проблеми очищення таких зон від небезпечних ксенобіотиків.

Слід зазначити, що залишкові кількості пестицидів у ґрунті сховищ відіграють роль селективного фактору, внаслідок впливу якого в мікробіоценозі залишаються мікроорганізми, стійкі до їх токсичної дії. Ці мікроорганізми можна також розглядати як потенційні деструктори гербіцидів.

Виділення стійких до пестицидів мікроорганізмів із ґрунтів складів та сховищ агрохімікатів, в яких накопичено їх велику кількість, можна розглядати як один із шляхів пошуку серед них потенційних деструкторів цих ксенобіотиків.

Підсумовуючи сказане вище, слід зазначити, що розвиток досліджень з вивчення впливу пестицидів на ґрунтові мікроорганізми є необхідним для наукового вирішення проблеми забезпечення екологічної безпеки при використанні пестицидів.

4.1.Висноки до розділу 4

1. Результати проведених досліджень доводять, що персистентні пестициди накопичуються в ґрунті в значних кількостях
2. Серед ґрунтових мікроорганізмів, що зазнають впливу гербіцидів та їх метаболітів є стійкі до дії високих концентрацій цих ксенобіотиків
3. У ґрунтах, забруднених залишками ХЗР у кількостях, які перевищують ГДК, формується специфічний мікробіоценоз. Специфіка формування ґрунтового мікробіоценозу в таких зонах залежить від типу пестицидів, їх концентрації у ґрунті, терміну впливу.
4. Використаний метод дифузії в агар для визначення чутливості мікроорганізмів до токсичної дії пестицидів є швидким та інформативним для пошуку резистентних штамів.
5. Показано, що ґрунтові бактерії родів *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Xantomonas* мають різну чутливість до токсичної дії гербіцидів гезагарду, атразину, дуалу і примекстри.

РОЗДІЛ 5

ОХОРОНА ПРАЦІ

Діяльність людини супроводжується потенційною небезпекою, може призводити до травм, захворювань, погіршення самопочуття, інших негативних наслідків. Тому для мінімізації таких негативних явищ в процесі трудової активності людини розробляються і закріплюються державою методологічні основи, правові бази охорони праці. Згідно розділу 2 ст. 6 Закону України «Про охорону праці» умови праці на робочому місці, безпека технологічних процесів, обладнання та інших засобів виробництва, стан засобів колективного та індивідуального захисту, що використовуються працівником, повинні відповідати вимогам законодавства.

Відповідальність за охорону праці і техніку безпеки при роботі з пестицидами покладається на керівника лабораторії, де проводяться дослідження.

Усі роботи з ХЗЗР проводяться особами, що інструктаж із техніки безпеки, що реєструється у спеціальному журналі.

5.1. Аналіз умов праці на робочому місці

5.1.1. Організація робочого місця

Робота інженера-еколога на підприємстві полягає у введенні екологічної документації, контролі та аналізі досліджень нормативно – методичного забезпечення, проведення розрахунків, написання звітів, складання програм природоохоронних заходів.

Робоче місце має розміри 6х5,5х2,8 метри (довжина, ширина, висота), площа 33 м² та об'єм 92,4 м³, що повністю відповідає нормативним вимогам до розмірів виробничих приміщень. В кабінеті працює одна людина, на робочому місці встановлений персональний комп'ютер. Приміщення обладнане шафою для зберігання документів і магнітних дисків, комп'ютерний стіл, письмовий стіл та два дерев'яних стільця.

Для забезпечення параметрів мікроклімату згідно з ГОСТ 12.1 005-88 виробничі приміщення обладнуються опаленням, природною та штучною вентиляцією відповідно до вимог СНІП 2.04.005-91, ДНАОП 8.7.10-1.01-96.

5.1.2 Перелік шкідливих та небезпечних виробничих чинників

В процесі роботи інженера-еколога на підприємстві в офісному приміщенні призводить до впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів. Небезпечні й шкідливі виробничі фактори за стандартом ГОСТ 12.0.003-74 поділяються на фізичні, хімічні, біологічні й психофізіологічні:

1. Фізичні:

- ✓ Електромагнітний вплив;
- ✓ електричний струм;
- ✓ пожежо-небезпечність;
- ✓ освітленість робочого місця.

2. Психофізіологічні:

- ✓ розумове перенавантаження; перенавантаження аналізаторів;
- ✓ монотонність праці; надмірні емоційні навантаження;

На працездатність та самопочуття працівника негативно впливає шум та локальна вібрація від роботи електронно-обчислювальних машин.

5.1.3. Аналіз шкідливих та небезпечних виробничих чинників

Робоче місце інженера-еколога відноситься до II а категорії відповідно до ДСН 3.3.6.042-99 “Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень” при яких витрата енергії дорівнює 151-200 ккал/год, робота виконується сидячи, стоячи та пов’язана з ходьбою, іноді переміщенням дрібних (до 1 кг) предметів (документи) [70]

5.1.4. Мікроклімат робочої зони

Встановлено оптимальні і допустимі параметри мікроклімату” Складаємо таблицю фактичних значень параметрів мікроклімату, які порівнюємо із встановленими санітарними нормама (табл. 4.1) [71].

Табл. 4.1

Період року	Допустима температура повітря	Фактичне значення температури повітря	Допустима вологість повітря	Фактичне значення вологості повітря	Допустима швидкість руху	Фактичне значення швидкості руху
Холодний період року	19 -21 °С	20 °С	60 - 40	50	0,2 м/сек	0,2 м/сек
Теплий період року	21 – 23 °С	22 °С	60-40	55	0,2 м/сек	0,2 м/сек

Фактичні значення робочої зони працівника відповідають діапазону при якому не відбувається перенагрівання або переохолодження і нормальна працездатність.

Для контролю температури в офісному приміщенні встановлюють систему кондиціонування повітря, також використовують цифрові термометри.

Для збереження температурного режиму, виробничі приміщення повинні бути оснащені певними охолоджуючими або нагрівальними обладнаннями.

5.1.5. Електробезпека

Персональні комп'ютери підключається до електромережі тільки за допомогою справних штепсельних з'єднань і електророзеток заводського виготовлення. В якості джерела живлення для експлуатації ПК використовується змінна напруга мережі 220 В з частотою 50 Гц. Гранично допустима напруженість електростатичного поля на робочих місцях не має перевищувати 20 кВ/м (ГОСТ 12.1.045 84, ДСанПіН 3.3.2.007-98) [72]

Згідно з “Правилами устройства электроустановок” (ПУЭ) приміщення відноситься до II а класу пожежної небезпеки [73].

Працівник може потрапити під дію електромагнітних полів і електричної дуги, які виникають у разі торкання або зближення провідників електричного струму. Електричний струм виявляє термічну, електролітичну і механічну (динамічну) та біологічну дію. Дія електричного струму на організм людини супроводжується зовнішнім ураженням тканин та органів у вигляді механічних ушкоджень, електричних знаків, електрометалізації шкіри, опіків. Тривалість проходження струму через організм людини впливає на кінцевий результат ураження: чим довше проходження струму тим більша можливість тяжкого і смертельного наслідку. Величина струму також впливає на організм людини.

5.1.6. Електромагнітні поля

В процесі експлуатації інженером-екологом персонального комп'ютера, в результаті роботи різних пристроїв комп'ютера (системний блок живлення, монітор, клавіатура) працівник підлягає впливу різноманітних факторів: електромагнітних полів, інфрачервоного та іонізуючого випромінювання, шуму і вібрацій, статичної електрики. Системний блок створює тільки [електромагнітне поле](#), монітор має два основних шкідливих фактора: бета-випромінювання (потік електронів) і висока напруга (досягає 16-20 кіловольт), що викликає іонізацію повітря.

При роботі з комп'ютером можуть виникати небезпечні та шкідливі виробничі фактори є:

- ✓ Електростатичні поля (радіочастоти);

- ✓ електромагнітне випромінювання;
- ✓ локальне стомлення, загальна втома;
- ✓ стомлюваність очей;
- ✓ небезпека [ураження електричним струмом](#);
- ✓ пожежонебезпека.

5.1.7. Освітленість робочого місця

Освітленість робочого місця відіграє велику роль у забезпеченні високопродуктивної праці та має безпосередній вплив на техніку безпеки при виконанні робіт. Робоче місце працівника оснащено природним і штучним освітленням відповідно до ДБН В.2.5-28-2006. Природне освітлення здійснюється через світлові прорізи, які орієнтовані на північ чи північний схід і обладнані регульовальними пристроями відкривання та жалюзями.

Як джерела штучного світла застосовується люмінесцентні лампи типу ЛБ. Систему загального освітлення виконано у вигляді суцільних ліній світильників, що розміщене збоку від виробничих місць (зліва), паралельно лінії зору працівника.

5.2. Заходи з охорони праці

З метою запобігання нещасних випадків при роботі з цими препаратами, необхідно виконувати всі заходи безпеки згідно з розробленими інструкціями, основними з яких є:

- до робіт з пестицидами не допускаються особи, молодші за 18 років, вагітні жінки та матері, що годують немовлят, громадяни пенсійного віку, особи, що мають протипоказання за станом здоров'я. особи, які направлені на роботу з отрутохімікатами інструктаж з техніки безпеки праці, пожежній безпеці, а також надання першої медичної допомоги у нещасних випадках.
- працюючих з отрутохімікатами потрібно забезпечити засобами індивідуального захисту: халат, гумові рукавиці.
- всім працюючим з отрутохімікатами потрібно дотримуватись правил особистої гігієни, на місцях роботи не вживати їжу, не пити, не палити.

- перед харчуванням треба зняти спецодяг, вимити з милом руки, лице, прополоскати рот.

За будь-якої роботи з пестицидами на місці роботи слід мати аптечку першої долікарської допомоги. За перших ознак отруєння — запаморочення, нудота, головний біль — потерпілому слід негайно надати першу допомогу, не очікуючи медичного працівника.

Насамперед, слід вивести потерпілого на свіже повітря, потім зняти з нього спецодяг, захистивши свої руки гумовими рукавичками.

У разі потрапляння препаратів в очі їх слід ретельно промити водою, чи 2% розчином питної соди, або борної кислоти, за ураження очей аміаком — 0,5% розчином квасців, за різкого болю закапати 1–2 краплі 30% розчину альбуциду.

Якщо пестицид потрапив на шкіру, його слід негайно змити водою або, не розмазуючи, зняти ватою, марлею, а потім обмити водою з милом. За ураження шкіри аміаком — обмити обпечені ділянки водою, накласти примочки із 5 % розчину оцтової або лимонної кислоти.

Під час вибору того чи іншого препарату слід враховувати й ступінь його токсичності. За ступенем токсичності для тварин і людей пестициди поділяють на класи. У сучасних характеристиках пестицидів переважно подається клас небезпечності (I–IV). Отже, вибираючи той чи інший препарат, користувач має, крім ціни на препарат та дії на шкідливі організми, враховувати ступінь токсичності для теплокровних.

За рівнем леткості речовини можуть бути дуже небезпечними — концентрація, що насичує повітря, більша чи дорівнює токсичній; небезпечними — більше порогової; малонебезпечними — не проявляють порогової дії.

5.3. Пожежна та вибухова безпека виробничого приміщення

Основними чинниками пожеж на робочому місці є: порушення технологічного режиму роботи обладнання; несправність електроустаткування; погана підготовка обладнання до ремонту; самозаймання деяких матеріалів і речовин тощо. В процесі експлуатації ПК на робочому місці не використовується легкозаймисті та вибухонебезпечні речовини, за вибухопожежною та пожежною безпекою, категорія приміщення – А, для гасіння пожежі потрібно встановити один порошковий переносний вогнегасник типу ВП-8, в офісі розміщений дворежимний сповіщувач пожеж та наявна система евакуації [73].

Джерелами займання можуть бути електричні іскри, дуги, коротке замикання, струмові перевантаження, перегріті опірні поверхні, несправність обладнання. Окислювачем звичайно служить кисень. Але потужність і тривалість дії цих джерел займання порівняно малі, тому горіння, як правило, нерозвивається. Виникнення пожежі в електронних пристроях можливо, якщо використовуються спалимі і важко спалимі матеріали і вироби.

Розрахунок вибору типу визначення потрібної кількості первинних засобів пожежогасіння виробничого приміщення

Офіс інженера-еколога займає площу $33 \text{ м}^2 = 6 \text{ м} \times 5,5 \text{ м}$, в приміщенні розташований один персональний комп'ютер.

Оскільки в кімнаті знаходиться твердий горючий матеріал (папір), то категорія приміщення В за вибухопожежною та пожежною безпекою, клас можливої пожежі – А.

Вихідні дані:

- ✓ Площа приміщення – 33 м^2 ;
- ✓ Розміри приміщення – $6 \text{ м} \times 5,5 \text{ м}$;
- ✓ Категорія за вибухопожежною та пожежною безпекою – В;
- ✓ Клас можливої пожежі – А;
- ✓ Оснащення приміщення – один комп'ютер;

- ✓ Розміросередку можливої пожежі – незначний.

Розв'язок:

1. Визначаємо, якого виду вогнегасники (переносні чи пересувні) слід прийняти до приміщення:

Головним критерієм вибору виду вогнегасників є величини можливого осередку пожежі. Оскільки розмір пожежі очікується незначний, вибираємо переносні вогнегасники.

2. Визначаємо рекомендовані типи вогнегасників:

Для цього користуємося методичкою «Вибір типу та визначення необхідної кількості первинних засобів пожежогасіння» з «Основи охорони праці»[36]. Для заданих вихідних умов приміщення повинно бути оснащено порошковими вогнегасниками. Для захисту виробничих об'єктів рекомендовані такі типи переносних порошкових вогнегасників: ВП-2, ВП-5, ВП-8.

3. Визначаємо кількість вогнегасників:

За даними таблиці 2, розділ 4 «Приміщення категорії В» [36] для площі нашого офісу 33 м² нам потрібно два порошкових вогнегасника типу ВП-5 або один порошковий вогнегасник типу ВП-8 результати заносимо до табл.4.1.

4. Визначаємо ефективність вогнегасників за їх вогнегасною здатністю

Користуючись таблицею Д4 додатку 4 [36] для вибраних даних вогнегасників визначаємо сумарний коефіцієнт ефективності для всіх вогнегасників за їх вогнегасною здатністю щодо гасіння пожежі класу А. Результати заносимо до табл.4.1 (строки 4,5).

Вибір вогнегасників для оснащення виробничого приміщення.

1	Види вогнегасників	Порошкові		
2	Типи вогнегасників	ВП-2	ВП-5	ВП-8
3	Їх кількість на площі 33м ²	2	2	1
4	Коефіцієнт ефективності вогнегасника при пожежі класу А	2	6	8
5	Сумарний коефіцієнт ефективності для всіх вогнегасників	2x2=4	2x6=12	1x8=8
6	Прийнятий тип вогнегасників			+

5. Остаточного прийнятий тип вогнегасників:

Враховуючи зручність експлуатації вогнегасника, та облаштування місць їх розташування, приймаємо рішення, що 2 вогнегасника для одного приміщення – дещо забагато, а варіант 1 вогнегасник типу ВП-8 рівноцінним як по кількості так і по сумарному коефіцієнту ефективності вогнегасників.

6. Розташування вогнегасників у приміщенні:

Згідно Наказу № 154 розділу 3, ч.3.6 та ч.3.8 «Про затвердження Правил експлуатації вогнегасників», вогнегасники слід розміщувати у легкодоступних і помітних місцях, а також поблизу місць, де найбільш імовірна поява осередків пожежі. При цьому необхідно забезпечити їх захист від дії сонячних променів, опалювальних і нагрівальних приладів, а також хімічно агресивних речовин (середовищ), які можуть негативно вплинути на їх працездатність.

Переносні вогнегасники розміщують шляхом навішування за допомогою кронштейнів на вертикальні конструкції на висоті не більше 1,5 м від рівня підлоги до нижнього торця вогнегасника і на відстані від дверей, достатній для їх повного відчинення, або встановлюють у пожежні шафи пожежних кранів, на пожежні щити чи стенди, підставки чи спеціальні тумби.

7. Висновок:

Для оснащення офісу, який за вибохопожежною та пожежною небезпекою належить до категорії В, клас можливої пожежі (А), вибрано 1 порошковий вогнегасник типу ВП-8.

Висновок

Охорона праці являє собою створення здорових та безпечних умов праці різними засобами. Техніка безпеки і "Охорона праці", передбачає технічні та організаційні заходи, що забезпечують безпечну працю на підприємстві. Порушення правил техніки безпеки і виробничих інструкцій обслуговуючим персоналом можуть бути причиною травм і професійних захворювань.

Умови праці на робочому місці, безпека робочих процесів, механізмів, стан засобів індивідуального захисту, що використовується працівником повністю відповідають вимогам нормативних актів про охорону праці.

Інженер-еколог протягом 8-ми годинного робочого дня використовує ПК.З метою уникнення перевантаження організму робочий день користувача ПК повинен проходити у раціональному режимі праці та відпочинку, який передбачає дотримання регламентованих перерв, їх активне проведення, систематичне проведення виробничої гімнастики, рівномірний розподіл завдань

СПИСОК БІБЛЮГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні .- 340 с.
2. Бублик Л.І., Васечко Г.І., Васил'єв В.П. та ін. Довідник із захисту рослин / За ред. Лісового М.П.- К.: Урожай, 1999.- 744 с.
3. Риклефс Р. Основы общей экологии: Пер. с англ.- М.: Мир, 1979.- 424 с. Доповнення до переліку пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні.- К.: Юнівест Маркетинг]
4. ЗУ «Про охорону навколишнього природного середовища» [Електронний ресурс]. – URL: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/1264-12>
5. . Moklyachuk L. Ecological Risks from Contamination of Ukrainian Soils by Persistent Organic Pollutants / O. Drebot, O. Moklyachuk, T. Moklyachuk, V. Monarh, // Environment and Ecology Research. – 2014. – № 2 (1). –
6. Монарх В.В. Оцінка екологічних ризиків забруднення пестицидами компонентів агроєкосистеми / В.В. Монарх // Збалансоване природокористування. – 2014. – № 1.
7. Методичні рекомендації. Алгоритм оцінки ризику гербіцидного навантаження на компоненти агроєкосистеми в умовах сучасного ведення сільськогосподарської практики / [Л.І.Моклячук, А.М.Ліщук, І.П.Яцук, Г.Д.Матусевич, Ю.О.Зацарінна, О.М.Моклячук, Т.М.Красільнікова, М.В.Драга, В.В. Монарх, Т.О.Моклячук, О.П. Мельничук,Б.В.Нікітіна, В.М. Караульна.– К., 2013. – 14 с.
8. Fritsche, Wolfgang Umwelt. Microbiologie: Grundlagen und Anwendungen. - Jena, 1998.- 252 p.]. [Bollag W.B., Dec I., Bollag I. –М. Biodegradation // Encyclopedia of Microbiology.- N.Y.:AP,2000.-Vol.1.- P. 475.
9. Макарчук Т.Л., Моклячук Л.І., Заєць О.Г. Науково-методичні підходи до агроєкологічного моніторингу пестицидів // Фізіологія та біохімія культурних рослин.- 1998.- Т. 30, № 2.- С. 124-130

10. Моклячук Л. І. Критерії оцінки кумулятивного ризику впливу суми органічних токсикантів на живі організми // Агроекологічний журн. – 2003.- № 3.- С. 38.
11. Моклячук Л.І., Городиська І.М., Андрієнко Г.Г., Грібіниченко В.М. Кризовий моніторинг ґрунтів, забруднених стійкими хлорорганічними ксенобіотиками // Агроекологічний журн.- 2005.- № 4.- С. 29-32].
12. Дензанов Г.О., Ткаченко С.І. Проблеми і можливі засоби захисту довкілля від токсичної дії заборонених та некондиційних пестицидів // Екологічний вісн.- 2003.- № 31.-С.23-25.
13. Агроекологічна оцінка мінеральних добрив та пестицидів / Патики В.П., Макаренко Н.А., Моклячук Л.І., Серeda Л.П. / За ред. В.П. Патики.- К.: Основа, 2005.- 300 с.
14. Pat. 5429949 USA, MKN 6C12 №1/20. S – triazine Degrading Bacteria/ Mark Radosevich, Newark, Del.; Olli H. Tuovinen; Samuel J. Traina. – Заявл. 22.02.94; Опубл. 04.07.95. - 22 р.
15. Pat. 47339 Japan, MKN, B09C. 1/10. Etsuko Sugawa, Masachiro Kawaguchi. Method for soil Remediation. Заявл. 26.03. 97; Опубл. 25.05.98.- 2 р.
16. Sahu K., Patnaik K.K., Bhuyan S. , Sethunathan N. Degradation of soil-applied isomers of hexachlorocyclohexane by a *Pseudomonas sp.* // Soil. Biol. Biochem. - 1993. - 25, № 3. - P. 387-391.
17. Yuan S. Y., Shiung L. C., Chang B.V. Biodegradation of polycycling aromatic hydrocarbons by inoculated microorganisms in soil // Bull. Environ. Contam. And Toxicol. - 2002.- № 1.- P .66-73.].
18. Douglas A. Haith and Frank S. Rossi. Risk Assessment of Pesticide Runoff from Turf // Journal of Environmental Quality.-2003.-№ 32.- P.445-447.
19. Drozda V. The problem of obsolete pesticides in Ukraine: solution, ecology and economy // Proceedings of 6 - th International HCH & Pesticides Forum, Poznan, Poland, 20- 22 March, 2001.- P. 143- 147.
20. Crawford I.I., Simmons F.W., Raskin L. Anaerobic microbial response to the herbicide c-dimethenamid in a flooded soil // Abst. 99th Gen. Meet. Amer.

- Soc. Microbiol. - Chicago, USA, May30-June 3, 1999. -Washington, 1999.- p.611.
21. Patyka V.P. Moclyachuk L.I. Project of recramation zones of soils polluted with HCH and COP on the territory of Askania – nova Reserve // Abstracts 7 - th International HCH and Pesticides Forum, 2003.- P. 44.
 22. Хайниш М., Паукке Х., Нагель Г.Д., Ханзен Д. Агрохимикаты в окружающей среде/ Пер. с нем. и предисл. Н.Г. Ракипова.- М.: Колос, 1979.- 357 с.
 23. Yuan S. Y., Shiung L. C., Chang B.V. Biodegradation of polycycling aromatic hydrocarbons by inoculated microorganisms in soil // Bull. Environ. Contan. And Toxicol. - 2002.- № 1.- P .66-73.
 - 24.[http:// ihst.ru / biosphere / 033/ Stockholm. htm](http://ihst.ru/biosphere/033/Stockholm.htm)
 25. Барановський В.А., Шищенко П.Г. Агроекологічна оцінка ґрунтів.- К., 2002.- 35 с
 - 26.Khaan S. Pesticides in the soil enviromental. - Amsterdam: Oxford, 1980.- 240 p.
 27. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы.-М.: Изд-во МГУ, 1987.-256 с.
 28. Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Бабьева И.П. и др. Роль микроорганизмов в биогеоценотических функциях почв // Структурно-функциональная роль почв в биосфере.- М., 1999.- С. 113-121.
 29. Андріюк К.І, Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. Функціонування мікробних угруповань в умовах антропогенного навантаження. К.: Обереги, 2001. 240 с.].
 30. Tertichnaya O. The state of the development in using microbiological remediation of pesticides polluted soils // 7- th International HCH and pesticides forum (Abstracts). - Kyiv, 7-10 june.2003.- P. 118 .
 31. Мазур С.О., Чабанюк Я.В., Шерстобоева О.В., Дем'янюк О.С., Бровко І.С., Кордунян О.О., Грузінський С.Ю., Шацман Д.О. Оптимізація мікробного біорізноманіття ґрунтів агроекосистем: Методичні рекомендації. К., 2018. 58 с.

32. Мазур С.О., Чабанюк Я.В., Шерстобоева О.В., Дем'янюк О.С., Бровко І.С., Кордунян О.О., Грузінський С.Ю., Гуменюк І.І., Подгурська І.О., Мазур М.В., Бойко К.І., Шацман Д.О. Новітні ресурсощадні технології і техніки в сільському господарстві для збереження та покращення родючості ґрунтів: Методичні рекомендації. К., 2018. 85 с.
33. Головлёва Л.А. Поведение пестицидов в окружающей среде. Биотическая и абиотическая их деградация // Агрохимия.- 1987.- № 8.- С. 128-134.
34. Sahu K., Patnaik K.K., Bhuyan S., Sethunathan N. Degradation of soil-applied isomers of hexachlorocyclohexane by a *Pseudomonas sp.* // Soil. Biol. Biochem. - 1993. - 25, № 3. - P. 387
35. Патики В.П., Коць С.Я., Волкогон В.А., Шерстобоева О.В. Біологічний азот/ За ред. В.П. Патики. - К.: Світ, 2003.- 424 с.
36. Патики В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д. та ін. Мікроорганізми і альтернативне землеробство/ За ред. В.П. Патики.- К.: Урожай, 1993.- 176 с].
37. Лебедева Г.Ф., Агапов В.И., Благовещенский Ю.Н., Самсонова В.П. Гербициды и почва (Экологические аспекты применения гербицидов)/ Под. ред. Е.А. Дмитриева.- М.: Изд-во МГУ,1990. - 208 с.
38. Жеребко В.М. Оптимізація використання гербіцидів // Карантин і захист рослин.-2004.- № 11.- С. 12-13.].
39. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды.- М.: Агропромиздат, 1991.-128 с.
40. Збереження біорізноманіття України: друга національна доповідь.- К.: Хімджест, 2003.- 110 с.
41. Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. та ін. Мікробіологічний моніторинг в системі біологічного моніторингу ґрунтів // Вісн. ОНУ. - 2001. - 6., вип. 4. - С.16-19.
42. Вернадский В.И. Биосфера и ноосфера.- М.: Наука, 1989.- 260 с.

43. Coleman D.C., Odum E.P., Grossley D.A. Soil biology, soil ecology and global change // Biol. Fertil. Soils. – 1992. - 14, № 2. - P. 104 – 111.
44. Alexander F.J. The breakdown of herbicides in soil // Herbicides in soil.- Oxford : Blackwell, 1960.- P.331-342.
45. Alexander M. Biodegradation and Bioremediation // Acad. Press.- San Diego.- 1994.- P. 1803.
46. Омельчук С.А. Матеріали к изучению деградации пропазина и мезоранила в почве // Деградация пестицидов при комплексной защите сельскохозяйственных культур от вредных организмов: Матеріали симп.- Л.:ВИЗР, 1990. - С.100.].
- 47.[Cook A. M. Biodegradation of s-triaziane xenobiotics // Fems. Microbiol. Rev.- 1987. - Vol.46. - P. 93-116,].
- 48.ЗУ «Про пестициди і агрохімікати» . [Електронний ресурс]. – URL: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/1264-12>
49. Мазур С.О., Акіндінова К.А. Оцінка технології вирощування соняшнику з використанням мікробіологічних показників ґрунту. Молодь у вирішенні екологічних та соціально-економічних проблем сьогодення: Матеріали II Міжнародної конференції (Одеса, 10–15 червня 2013 р.). Одеса, 2013. С. 148–150.
50. Baumgartner J.R., Al-Khatib K., Currie R.S. Cross-resistance of imazethapyr-resistant common sunflower (*Helianthus annuus*) to selected imidazolinone, sulfonyleurea, and triazolopyrimidine herbicides. Weed Technology. 1999. No. 13. P. 489–493.
51. Beckert M., Dessaux Y., Charlier C., Darmency H. et al. Herbicide-tolerant plant varieties. Agronomic, environmental and socio-economic effects. France: CNRS-INRA. 2011. 81 p.
52. Beckie H.J. Herbicide Resistance in Weeds and Crops: Challenges and Opportunities. Recent Advances in Weed Management Springer. 2014. P. 346–364.
53. Caracciolo A., Giuliano G., Grenni P., Guzzella L., Pozzoni F.

- Degradation and leaching of the herbicides metolachlor and diuron: a case study in an area of Northern Italy. *Environmental Pollution*. 2005. No. 134 (3). P. 525–534.
54. Chapman M., Hvala J., Strever J. Development, polymorphism and cross- taxon utility of EST-SSR markers from safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Theoretical Appl. Genetica*. 2009. No. 120. P. 85–91.
 55. Elezovic I, Datta A, Vrbnicanin S, Glamoclija D, Simic M, Malidza G, Knezevic SZ. Yield and yield components of imidazolinone-resistant sunflower (*Helianthus annuus* L.) are influenced by pre-emergence herbicide and time of post- emergence weed removal. *Field Crops Research*. 2012. No. 128. P. 137–146.
 56. Juhler R., Henrikse T., Ernstsens V. Impact of basic soil parameters on pesticide disappearance investigated by multivariate partial least square regression and statistics. *Journal of Environmental Quality*. 2008. No. 37. P. 1719–1732
 57. Knezevic S., Elezovic I., Datta A., Vrbnicanin S. Delay in the critical time for weed removal in imidazolinone-resistant sunflower (*Helianthus annuus*) caused by application of pre-emergence herbicide. *International Journal Pest Management*. 2013. No. 3. P. 229–235.
 58. Куликова Н.А., Лебедева Г.Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения. Учебное пособие. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2010. 152 с.
 59. Довідник із захисту рослин / Бублик Л.І., Васечко Г.І., Васил'єв В.П. та ін. / За ред. Лісового М.П.- К.: Урожай, 1999.- 744 с.
 60. Мельников Н.Н. Пестициды: Химическая технология и применение- М.: Химия, 1987. – 609 с.
 61. Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М. [та ін.] Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія – за ред. В.В. Волкогона. К.: Аграрна наука. 2010. 464 с.
 62. Методы общей бактериологии: В 3 т. Т.2/ Под ред. Ф. Герхардта и др.: Пер. с англ. - М.: Мир, 1984.- 470 с.

63. ДСТУ 180 11269. Метод рекомендований для вимірювання вологомісткості ґрунту.- К.: Держспоживстандарт України.- 2004.- 16 с.
64. Методы почвенной микробиологии и биохимии/ Под ред. Д. Г. Звягинцева. - М.: Изд-во МГУ, 1991.- 302 с.
65. Тертична О.В. Модифікація методу дифузії в агар для визначення чутливості мікроорганізмів до пестицидів. Агроекологічний журнал. 2004. № 4. С. 68–70.
66. Методичні вказівки «Визначення чутливості мікроорганізмів до пестицидів методом дифузії в агар з використанням дисків з фільтрувального паперу» / За ред. Т.Г. Омелянець.- К.: Логос.- 2005.- 12 с.
67. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник т.2/ Сост. Клисенко М.А. и др.-М.: Агропромиздат, 1992.- 416 с.
68. Chabanyuk Y., Brovko I., Koretsky A., Mazur S. Functioning of soil microbiota under the influence of herbicides. Агроекологічний журнал. 2016. № 4. С. 122–127
69. ДСН 3.3.6.042-99 “Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень”: [Електронний ресурс]. - URL: http://www.dnaop.com/html/31675/doc-ДСН_3.3.6.042-99/.
70. НАПБ Б.03.002-2007 “Норми визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою”: [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://dbn.at.ua/load/normativy/21-1-0-313>.
71. Правила устройства электроустановок (ПУЭ): [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.diagram.com.ua/list/45.shtml#pue>.
72. СанПіН 2.2.2. 542-96 “Гігієнічні вимоги до відеодисплейних терміналів, персональних електронно-обчислюваних машин та організації роботи”: [Електронний ресурс]. – URL: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1079.143.0>.

73.ГОСТ 12.1.005-88 “Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря
робочої зони”.[Електронний ресурс]. –
URL:<http://.ekan.ua/sites/docs/GOST-12-1-005-88>.